Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

UNTERSUCHUNG VON PLASMASPIEGELN UND KONZENTRATIONEN VON ADRIAMYCIN IN LEUKOZYTEN, GALLENSAFT UND GEWEBEN UND DEREN KLINISCH-PATHOLOGISCHEN KORRELATIONEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Joachim Stocker
aus Bad Rappenau

1979

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

UNTERSUCHUNG VON PLASMASPIEGELN UND KONZENTRATIONEN VON ADRIAMYCIN IN LEUKOZYTEN, GALLENSAFT UND GEWEBEN UND DEREN KLINISCH-PATHOLOGISCHEN KORRELATIONEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Joachim Stocker
aus Bad Rappenau

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. Dr. N. Schwenzer
1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Wilms
(Professor Dr. H. D. Waller)
2. Berichterstatter: Professor Dr. P. Bieck

Meinem Bruder Siegbert gewidmet

Abkürzungen:

Adm	Adriamycin
Adm-ol	Adriamycinol
Adm-on	Adriamycinon
BSP	Bromsulphthalein
Ca	Karzinom
DC	Dünnschichtchromatographie
$\triangle$	Distributionskoeffizient
DNA	Deoxyribonukleinsäure
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
F	Fläche unter der Kurve
h	Stunde
HWZ	Halbwertszeit (en)
HWZ_{el}	Eliminationshalbwertszeit (en)
HWZ_{v}	Verteilungshalbwertszeit (en)
k_{el}	Eliminationskonstante
m	männlich
min	Minute (n)
RNA	Ribonukleinsäure
w	weiblich
y_{oel}	Schnittpunkt der extrapolierten Regressionsgeraden im linearen Teil der Plasmaspiegelverlaufskurve mit der y-Achse

Alle Dosisangaben in mg/m^2 Körperoberfläche

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548928_0004

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A	Einleitung	
1.	Herkunft und Struktur von Adm	3
2.	Wirkungsmechanismus	5
3.	Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung von Adm	6
4.	Klinische Bedeutung	8
5.	Unerwünschte Wirkungen	
5.1.	Übliche Nebenwirkungen	10
5.2.	Kardiotoxizität	10
5.3.	Erhöhung der Toxizität von Adm als Folge von Bestrahlung, Arzneimittelinterferenzen und hepatischen Exkretionsstörungen	11
6.	Ziel der Untersuchung	12
B	Materialien und Methoden	
1.	Gewinnung von Blutproben	14
2.	Separation von Plasma und Leukozyten	14
3.	Gewinnung der Gallenflüssigkeit	15
4.	Entnahme der Gewebeproben	15
5.	Verarbeitung der Proben	15
5.1.	Extraktion aus Plasma	16
5.2.	Extraktion aus Leukozyten	17
5.3.	Extraktion aus Gallensaft	17
5.4.	Verarbeitung von Gewebe	17
6.	Dünnschichtchromatographie	17
7.	Identifikation und Quantifizierung	18
8.	Pharmakokinetisches Modell	19
C	Ergebnisse	
1.	Beschreibung der Plasmaspiegel	21
1.1.	Adm-Plasmaspiegel	21
1.2.	Adm-ol-Plasmaspiegel	26
1.3.	Adm-on-Plasmaspiegel	26

2. Vergleich der Plasmaspiegelanalysen von Adm, Adm-ol und Adm-on 29
3. Graphische Darstellung und Beschreibung der Plasmaspiegel von vier Patienten 30
4. Plasmaspiegel zweier mehrmals untersuchter Patienten 34
4.1. Beschreibung der Kurven der Patientin Sch, G 34
4.2. Beschreibung der Kurven des Patienten Fe, A 37
5. Konzentrationen von Adm in den Leukozyten dreier Patienten 40
6. Gallensaftanalysen 47
7. Gewebekonzentrationen 56
8. Klinische Daten und Korrelationen der untersuchten Patienten 57

D Diskussion
1. Plasmaspiegel 59
2. Konzentration in den Leukozyten 63
3. Gallensaftanalyse 64
4. Gewebekonzentrationen 68

E Zusammenfassung 70

F Literaturverzeichnis 72

A Einleitung

1. Herkunft und Struktur von Adm

Adm (Abb. 1) ist ein im aeroben Metabolismus von Streptomyces peucetius var. caesius entstandenes Anthrazyklin-Antibiotikum.
Im Jahre 1967 wurde es erstmals von Arcamone et al in den Forschungslaboratorien der Farmitalia Mailand isoliert (1). Es ist das 14-Hydroxy-Derivat von Daunomycin, welches schon früher isoliert und hauptsächlich in der Behandlung akuter Leukämien eingesetzt worden war; Daunomycin besitzt aber eine größere Toxizität als Adm (4).
Die Struktur und Konfiguration von Adm wurde mit chemischen und spektroskopischen Methoden aufgeklärt. Das Adm-Molekül besteht aus einer chromophoren Anthrazyklingruppe, die mit einer Aminopyranose glykosidisch verbunden ist (3). Durch milde saure Hydrolyse entstehen das in Wasser unlösliche rote Aglykon Adm-on (Abb. 2) und der Aminozucker Daunosamin (2). Adm-Hydrochlorid ist in Wasser, physiologischer Kochsalzlösung und Methanol gut löslich, allerdings kaum oder gar nicht in wenig polaren organischen Lösungsmitteln (1,2). Das Aglykon löst sich gut in organischen Lösungsmitteln, schlecht bzw. gar nicht in polaren Solventien, wie z. B. Wasser.

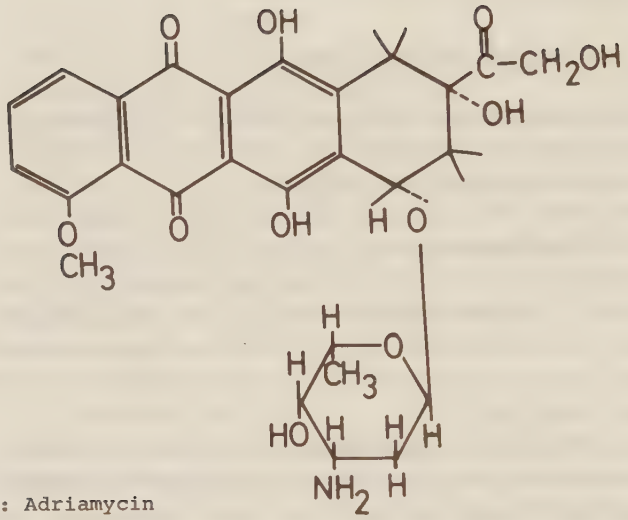

Abb. 1: Adriamycin

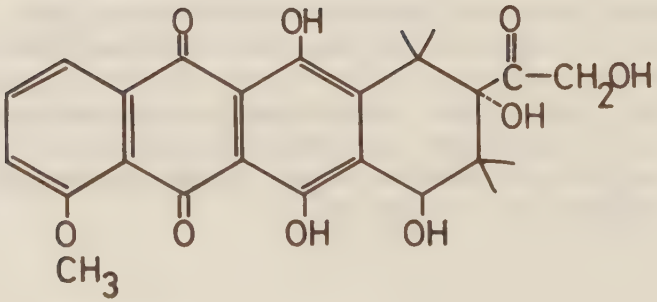

Abb. 2: Adriamycinon

2. Wirkungsmechanismus

Mit Hilfe von radiochemischen Methoden wurde nachgewiesen, daß der größte Teil des Adm, der von der Zelle aufgenommen wird, im Nukleus erscheint. Einen geringen Teil findet man auch in den Mitochondrien und Mikrosomen (27). Röntgenographische Untersuchungen (53), spektrophotometrische Ergebnisse (70), Zunahme der Viskosität und der Schmelztemperatur und andere physikochemische Veränderungen eines Adm-DNA-Ansatzes machen wahrscheinlich, daß Adm mit DNA einen stabilen Komplex bildet (27,29). Diese spezifische Bindung von Adm an die DNA wird durch drei verschiedene Interaktionstypen bewirkt:

a) die elektrostatische Interaktion zwischen der protonierten Aminogruppe des Zuckers und der ionisierten Phosphatgruppe der DNA
b) die Wasserstoffbrückenbindungen
c) die Interkalation des Adm-Moleküls zwischen zwei benachbarte Basenpaare

Ob bestimmte Basensequenzen bevorzugt werden, ist noch nicht sicher nachgewiesen (27, 29).
Die stereochemische Veränderung führt zu einer Hemmung der Enzyme der DNA-Replikation und DNA-Transkription (28,69). Ergebnissen aus zellfreien Systemen entsprechen Befunde aus in-vivo-Versuchen und Zellkulturen, bei denen eine Hemmung des Einbaus von Vorstufen in die DNA und RNA, der Mitose und das Auftreten von Chromosomenaberrationen beobachtet wurden (45,47,54,62).

3. Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung von Adm

Nach einer i. v. Injektion verläßt Adm rasch den Extrazellulärraum und gelangt in die Zellen fast aller Organe. Die Plasmaspiegelverläufe folgen einer Kinetik 1. Ordnung. Man unterscheidet eine Distributionsphase mit einer HWZ von ungefähr einer halben Stunde und eine Exkretionsphase mit verhältnismäßig langer HWZ von etwa siebzehn Stunden (6,13,42). Wie Versuche an Kaninchen zeigten, wird Adm durch einen aktiven Prozeß gegen einen Gradienten in die Zelle aufgenommen (47). Dieser Vorgang ist, ähnlich wie die Aufnahme von Daunorubicin, temperaturabhängig (41). In den Körpergeweben, abgesehen vom Gehirn, läßt sich eine beträchtliche Anreicherung von Adm im Verhältnis zum Plasma nachweisen (15,16). Die höchsten Konzentrationen erreicht Adm in Lunge, Niere, Milz, Dünndarm und Leber (8,15). Di Fronzo et al gaben in Versuchen mit ^{3}H markiertem Adm ein Konzentrationsverhältnis von Erythrozyten zu Leukozyten von 1:600 an. Die Konzentration in den Erythrozyten entsprach in etwa der im Plasma; das ist verständlich, da Adm an die DNA gebunden wird und Erythrozyten keinen Kern besitzen (26).
Adm wird überwiegend intrazellulär metabolisiert, wenngleich das Molekül auch in Plasma, Urin und Gallensaft gewisse Veränderungen erfährt. Das wichtigste Abbauenzym ist eine NADPH-abhängige Aldo-Keto-Reduktase, die Adm zu Adm-ol (Abb. 3) reduziert (8). Mehrere Glykosidasen existieren, welche die Aminopyranose von dem Anthrazyklinringgerüst abspalten (5,7). Offensichtlich werden die wasserunlöslichen Aglykone bevorzugt am Ring 4 demethyliert und als wasserlösliche Sulfat- oder Glukuronsäurekonjugate eliminiert (6).

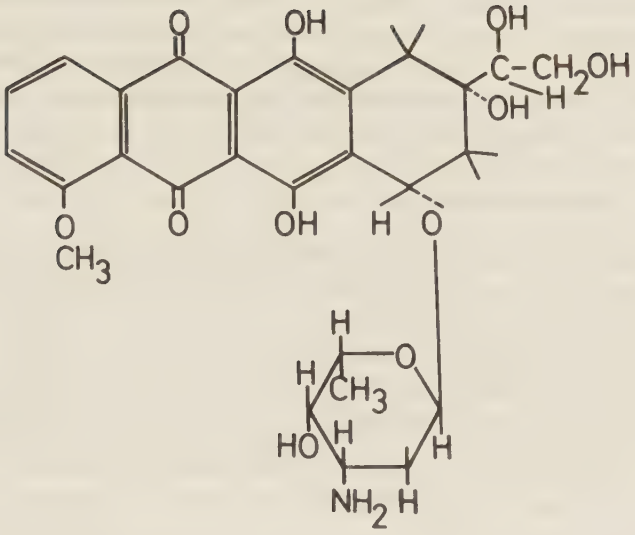

Abb. 3: Adriamycinol

Während Adm-ol aufgrund seiner geringen Molekülveränderung an C_{13} in seiner Interaktion mit der DNA-Helix kaum beeinträchtigt ist und seine Fähigkeit, den DNA- und RNA-Stoffwechsel zu hemmen, überwiegend behält, verliert Adm-on deutlich an pharmakologischer oder biochemischer Wirkung in Zellkulturen (6).
Struktur und Konfiguration des Zuckerrestes scheinen von vorrangiger Bedeutung für die Stabilisierung des Komplexes mit der DNA zu sein. Demzufolge dürften nur Adm selbst und solche Metabolite eine ausgeprägte tumorhemmende Wirkung entfalten, bei denen der Aminozucker nicht abgespalten wurde (29,65).

In Versuchen an Kaninchen (8) und Hunden (67) fand man, daß Adm hauptsächlich über die Galle ausgeschieden wird. Dieser Weg ist auch für den Menschen nachgewiesen (14,55). Der quantitativ wichtigste Metabolit ist hier, wie auch in Plasma, Urin und Gewebe, Adm-ol; weitere polare Metabolite und Aglykone wurden differenziert.

4. Klinische Bedeutung

Adm besitzt allein und in Kombination mit anderen Zytostatika ein breites Wirkungsspektrum in der Chemotherapie solider Malignome und Hämoblastosen (1,4), insbesondere auch bei primären Knochen- und Bindegewebsmalignomen, wie den osteogenen Sarkomen und dem Ewingsarkom, die auf die meisten bisher angewandten Chemotherapeutika schlecht ansprachen (17).

Tab. 1: Tumorwirksames Spektrum von Adm (nach Carter, 20).

Sichere Aktivität	Mögliche Aktivität
Mamma-Adenoca	Magen-Adenoca
Weichteil- und Knochensarkome	Ovar-Adenoca
Blasen-Adenoca	Prostata-Adenoca
Bronchusca	Plattenepithelca der
Hodenca	Cervix Uteri
Schilddrüsenca	Plattenepithelca im Kopf-
pädiatrische solide Tumoren	und Halsbereich
Maligne Lymphome	Hepatocelluläres Ca
Akute Leukämien	Multiples Myelom
Ohne Aktivität	**Unzureichende Daten**
Kolon-Adenoca	Pankreas-Adenoca
Malignes Melanom	Ösophagus Plattenepithelca
Hypernephroides Ca	Hirntumoren
	Chronische Leukämien

Bei der Behandlung von Mammaadenokarzinomen wird die von Salmon und Jones angegebene Kombination Adm-Cyclophosphamid häufig angewandt. Sie berichten über eine Ansprechrate von 84 % (58).
Die Kombinationstherapie mit Adm gewinnt zunehmend an Bedeutung bei der Behandlung der Sarkome des Knochens und des Bindegewebes. Gottlieb et al stellten bei der Kombination Adm-DTIC eine Ansprechrate von 43 % fest (36). 1974 gaben Gottlieb et al eine Kombination mit Adm, Cyclophosphamid, DTIC und Vincristin an. Auf diese Kombination sprachen 60 % der behandelten Patienten mit Weichteilsarkomen an (37).
Bei der Monotherapie des Blasenca wurde eine durchschnittliche Ansprechrate von 35 % (32,51), beim Schilddrüsenca, ohne Unterteilung in histologische Typen, von 30 % (38), beim nicht-kleinzelligen Bronchusca, das gemeinhin auf Chemotherapie schlecht anspricht, von 19 % (16, 25, 60) beschrieben.
Bei soliden Tumoren im Kindesalter finden sich bezüglich der Ansprechraten folgende Angaben: Wilms Tumor 68 %, Neuroblastome 33 %, Osteosarkome 55 %, Ewing Sarkom 55 %, Rhabdomyosarkom 41 % (20,59,61,64).
Mc Credie et al erreichten bei akuten Leukosen Erwachsener mit einer Kombination aus Adm, Vincristin, Prednison und Cytosin-Arabinosid eine komplette Remissionsrate von 85 % (46).
Diese Angaben mögen verdeutlichen, daß Adm gegenwärtig eines der meist angewandten und erfolgreichsten Chemotherapeutika ist. Manche Remissionsraten werden sich durch neue Dosierungs- und Kombinationsschemata noch verbessern lassen.

5. Unerwünschte Wirkungen

5.1. Übliche Nebenwirkungen

Die Anwendung von Adm wird begrenzt durch Nebenwirkungen, wie sie auch bei anderen zytotoxischen Chemotherapeutika in ähnlicher Form auftreten. Jene sind dosisabhängig und im allgemeinen reversibel. Am häufigsten treten auf: Knochenmarksdepression bei 60 - 80 % der Patienten, Nausea und Erbrechen bei 20 - 55 %, Stomatitis bei 80 %, und Alopezie in offensichtlich allen Fällen. Die von der Dosierung des Adm und der regenerativen Potenz des Knochenmarks abhängige Leukopenie ist aufgrund der erhöhten Infektionsgefährdung für den Patienten klinisch schwerwiegender als die Thrombo- und Erythropenie (20). Der Nadir der Leukozyten erscheint etwa zwölf Tage nach einer Adm-Injektion. Die Normalisierung wird um den neunzehnten Tag erreicht. Deshalb sollte ein Intervall von drei Wochen zwischen zwei Adm-Stößen nicht unterschritten werden (16).

5.2. Kardiotoxizität

Das größte Problem stellt jedoch die Kardiotoxizität dar. Man unterscheidet einen Soforttyp mit unspezifischen EKG-Veränderungen und Tachykardie (43), dessen Auftreten unabhängig von der Einzel- oder Gesamtdosis ist, von einem Spättyp mit progredienter Herzinsuffizienz aufgrund einer irreversiblen Kardiomyopathie. Elektronenoptisch werden folgende Veränderungen beschrieben: Abnahme der Myofibrillen, begleitet von mitochondrialen Anschwellungen, Ödem, Vakuolisierung der Myozyten bis zu ausgedehnter Fibrosierung, vor allem um Aufzweigungen der Koronararterien herum, Nukleusdegenerationen, Veränderungen am sarkoplasmatischen Retikulum und Abnahme der Glykogengranula (31,43,44,52,68). Olson et al fanden an mit Adm behandelten Kaninchen deutliche Anstiege von Ca, Na und Wasser im Myokard (52).

Insgesamt trat die kardiotoxische Wirkung bei etwa 1,8 % aller behandelten Patienten auf, jedoch waren nur 0,3 % der Patienten betroffen, die 500 mg/m^2 Adm oder weniger erhalten hatten (49). Andere Autoren geben an, daß bis zu einer kumulativen Dosis von 550 mg/m^2 eine Herzinsuffizienz in 0,13 - 1 % der Fälle auftrat, bei höherer kumulativer Dosis in 26,8 - 30 %. Diese Erfahrungen machten eine Begrenzung der Dosis auf maximal 550 mg/m^2 notwendig (43,44).
Verschiedene nichtinvasive Methoden zur möglichst frühzeitigen Entdeckung kardialer Schäden bzw. Funktionsminderung wurden erprobt (40,43,50,56); diese erwiesen sich jedoch als nicht genügend spezifisch, da man bei 26 % der Autopsien histologisch Zeichen der Kardiotoxizität fand, während sich keine klinisch nachweisbare Kardiomyopathie entwickelt hatte (24). Für den klinischen Gebrauch geeignet erwies sich die Ultraschalldiagnostik, mit der man frühzeitig eine Verringerung der Auswurfleistung des Herzens feststellen kann (40). Zwei neuere Arbeiten bringen eine Gegenüberstellung bekannter nichtinvasiver Methoden und der transvenösen Endomyokardbiosie. Sie zeigen, daß histologisch Läsionen am Myokard bereits zu einer Zeit gefunden wurden, zu der alle funktionellen Tests noch keinen Hinweis auf eine Kardiomyopathie boten (19,33).

5.3. Erhöhung der Toxizität von Adm als Folge von Bestrahlung, Arzneimittelinterferenzen und hepatischen Exkretionsstörungen

Außerdem sind bei der Anwendung von Adm noch vier Erfahrungen zu beachten:

a) Schnelleres Auftreten der Herzinsuffizienz bei vorangegangener Bestrahlung im Herz-Thoraxbereich (31,34,49).

b) Bei Kombination mit Cyclophosphamid empfehlen Minow et al eine Dosis begrenzung auf 450 mg/m^2, da sie auch in diesem Falle eine Potenzierung der kardiotoxischen Effekte beobachtet haben (49).
c) Die Kombination mit Streptozocin führte zu höheren Konzentrationen von Adm im Plasma als bei alleiniger Adm-Therapie. Die Folge war, daß die Toxität in Form von Mukositis, Leuko- und Thrombopenie ausgeprägter in Erscheinung trat (22,23).
d) Da Adm und seine Metabolite, wie schon erwähnt, zum größten Teil über die Galle ausgeschieden werden, kommt es bei hepatischen Vorerkrankungen bzw. Exkretionsstörungen häufig zur Retention von Adm und damit zu einer Steigerung der Toxizität (16).

6. Ziel der Untersuchung

Für die Chemotherapie der Malignome werden Substanzen eingesetzt, deren erwünschte zytotoxische Wirkung auf Tumorzellen mit der unerwünschten auf sich schnell teilende Gewebe des Organismus kombiniert ist.
Das Bestreben geht deshalb dahin, die unerwünschten Wirkungen bei guter Tumorwirksamkeit möglichst gering zu halten. Die erwähnte erhöhte Toxizität von Adm als Folge der Kumulation bei Cholostase machen z. B. eine Kontrolle der Plasmaspiegel,evtl. auch der Konzentration von Adm in den Leukozyten sinnvoll. Unter Berücksichtigung der pharmakokinetischen Ergebnisse könnten vielleicht die Dosierungsrichtlinien in folgenden Punkten verbessert werden:

a) Anpassung der Dosierung an die individuelle Pharmokokinetik
b) Bestimmung einer tumorwirksamen Plasmakonzentration
c) Intensivere Überwachung von Patienten mit erhöhten Plasmaspiegeln, bei denen deshalb eine verstärkte Myelosuppression zu erwarten ist, und eine daran angepaßte Dosisreduktion bei der nächsten Gabe.

In dieser Arbeit sollen daher Konzentrationen von Adm und zwei Metaboliten in Plasma, Leukozyten, Gallensaft und Gewebe mit einer einfachen, in der Klinik anwendbaren Methode (30) untersucht und daraus mögliche Konsequenzen für die Therapie abgeleitet werden.

B Materialien und Methoden

1. Gewinnung von Blutproben

Vor einer Adm-Injektion und nach 5, 10, 30, 60 min, 2, 4, 12, 24 und 48 h wurden den Patienten aus einer Braunüle (Braun, Melsungen) am kontralateralen Arm mit Liquemin^{R} (Hoffmann-LaRoche) heparinisierte 4-ml-Blutproben abgenommen, mit einer Stock Zentrifuge bei 800 g zentrifugiert, und das Plasma sofort in Greiner PPN-Röhrchen tiefgefroren bei - 20^{o} C.

2. Separation von Plasma und Leukozyten

Die Gewinnung der 8-ml-Blutproben erfolgte in der o. a. Weise. Nach der von Bøyum angegebenen Methode wurde die Sedimentierlösung mit etwa der gleichen Menge Blut überschichtet und eine halbe Stunde lang inkubiert (18). Danach waren die Erythrozyten absedimentiert. Der Überstand aus Plasma und Leukozyten wurde mit einer Eppendorfpipette mit 1 ml Spitze abgehoben und in einem PPN-Röhrchen 5 min bei 300 g zentrifugiert. Das Plasma wurde abgeschüttet [1], das Leukozytensediment mit 1 ml 5%igem Mg-Titriplex [2] (Merck 8409) und 1 ml 0,83%igem Ammonium-

[1] Es ist bei dieser Methode nicht verwendbar, da Dextranmoleküle aus der Sedimentierlösung in das Plasma diffundieren. Bei Ansäuerung kommt es zur sauren Hydrolyse. Die Hydrolyseprodukte stören beim Auftragen auf die DC-Platte und ebenso bei der Trennung.

[2] Da es mit Heparin nicht gelang, die Verklumpung der Leukozyten zu verhindern, wurde Mg-Titriplex verwendet.

chlorid (Merck 1145) mit einem Cenco Whirlmix aufgeschüttelt und 5 min stehen gelassen, um die restlichen Erythrozyten zu hämolysieren. Nach Abzentrifugieren wurden die Leukozyten mit RPMI-1640 Medium (Microbiological Associates, Bethesda, Maryland) zweimal gewaschen, die Zellzahlen/ul bestimmt und in 1 ml Medium tiefgefroren.

3. Gewinnung der Gallenflüssigkeit

Vor der Adm-Injektion wurde den Patienten eine doppelläufige Gastroduodenalsonde gelegt, deren Lage röntgenologisch kontrolliert, und der Gallen- und Magensaft kontinuierlich abgesaugt. Vorher und nach 15, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 min wurden Aliquots entnommen, sofort eingefroren, und das im Intervall abgesaugte Gallensaftvolumen gemessen. Parellel dazu wurden Blutproben wie oben angegeben abgenommen.

4. Entnahme der Gewebeproben

Gewebeproben aus Leber, Pakreas, Niere und Herz wurden im pathologischen Institut von einer sechs Tage nach Adm-Therapie verstorbenen Patientin und bei einer anderen Patientin als Leerwert entnommen und in Glasfläschchen tiefgefroren.

5. Verarbeitung der Proben

Die Verarbeitung aller Proben wurde nach der von Ehninger angegebenen Methode zum quantitativen Nachweis von Adm und zweier seiner fluoreszierenden Metabolite durchgeführt (30). Das Prinzip besteht darin, daß Adm und seine Metabolite abhängig von der Polarität der Substanzen in zwei Schritten extrahiert werden. Bei einem pH von 2 ist die Aminogruppe des Daunosamin protoniert. Als polares Molekül ist

die Löslichkeit in einem hydrophoben Lösungsmittel in Relation zu dem unpolaren Aglykon, bei dem wegen des fehlenden Aminozuckers diese Protonierung nicht erfolgen kann, nahezu aufgehoben. Beim ersten Schritt wird deshalb fast ausschließlich Adm-on extrahiert. Umgekehrt lösen sich Adm und Adm-ol bei einem pH von 8,8 in dem Lösungsmittelgemisch Chloroform/Methanol 5:1(4+1) gut. Diese Methode bietet den Vorteil, daß störende Gallenfarbstoffe und andere Substanzen sich bei der DC nicht mit einer der zu messenden Banden überdecken.
Die eingefrorenen Proben wurden innerhalb von 48 h verarbeitet.

5.1. Extraktion aus Plasma

Das tiefgefrorene Plasma wurde im Wasserbad bei 30° C aufgetaut, 1 ml in ein Zentrifugenglas mit Schliffstopfen pipettiert, 20 ml Chloroform und 0,2 ml 1N Salzsäure hinzugefügt, und horizontal 15 min geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren mit einer Hettich Silenta III Zentrifuge bei 170 g wurde die Chloroformphase mit 5 ml Einmalspritzen und Kanülen Nr. 1 (Braun, Melsungen) nach Durchstechen der Eiweißphase in einen Glaskolben überführt. Diesen ersten Extrakt dampfte man mit einem Heidolph Saugrotationsverdampfer im Wasserbad von 30° C ein. Der Rückstand wurde mit einmal 2 ml und einmal 1 ml Chloroform aufgelöst und in PPN-Reagenzröhrchen pipettiert.
Beim zweiten Schritt fügt man zu dem Überstand 20 ml Chloroform, 4,8 ml Methanol, 0,2 ml 1 N Natronlauge und 1 ml Tris-Puffer, pH 8,8,hinzu. Die pH-Werte wurden mit einem Knick pH-Meter kontrolliert und gegebenenfalls nachtitriert. Dies war selten bei Gewebe- und Gallensaftextraktionen notwendig. Weiter wurde wie beim ersten Schritt verfahren.

5.2. Extraktion aus Leukozyten

Nach dem Auftauen im Wasserbad bei 30° C wurden die Leukozyten mit einem Branson Sonifier B-12 (Branson Sonic Power Co, Danbury, Connecticut) bei Stufe 1 - 2 15 sec lang beschallt, um die Zellen aufzuschließen. Die Extraktion erfolgte nach dem oben beschriebenen Verfahren.

5.3. Extraktion aus Gallensaft

Auch sie erfolgte nach dem oben für Plasma beschriebenen Verfahren. Wegen der höheren Konzentration an Adm wurden nur 0,5 ml Gallensaft eingesetzt.

5.4. Verarbeitung von Gewebe

Im tiefgefrorenen Zustand wurden 0,5 Gramm aus der Probe mit einer Feinwaage (Mettler, Spoerhase AG, Gießen) in ein Zentrifugenglas abgewogen, 20 ml Chloroform und 0,25 ml 1 N Salzsäure zugegeben und mit dem Ultraturrax bei Stufe 100 1 min lang homogenisiert. Das weitere Vorgehen entsprach dem der Extraktion aus Plasma, nur wurden beim zweiten Schritt analog der 0,25 ml Salzsäure im ersten zur Neutralisation 0,25 ml 1 N NaOH zu dem Überstand gegeben.

6. Dünnschichtchromatographie

Die beiden Chloroformextrakte wurden im Exsikkator bei Zimmertemperatur mit der Wasserstrahlpumpe eingedampft. Den Rückstand löste man mit zweimal 0,04 ml Chloroform für die Spektroskopie (Uvasol^{R}, Hoechst), schüttelte ihn mit einem Heidolph Whirlmix und trug ihn mit einer 0,02 ml Eppendorf-Pipette als 2 - 3 cm breite Startbande 4 cm vom Rand und 3 cm vom Boden entfernt auf kieselgelbeschichtete Aluminiumfolien (DC Karten SI, Kieselgel für Dünnschichtchromato-

graphie, Riedel-de Haën,Seelze-Hannover) auf. Die Platten wurden in mit Whatman DE 81 Chromatographiepapier ausgekleideten Glasgefäßen (Desaga, Heidelberg) bei Zimmertemperatur senkrecht aufsteigend viermal entwickelt, und zwar 5, 7, 10 und 40 min lang. Zwischen jedem Lauf ließ man die Platten gut trocknen. Auf diese Weise wurde eine schärfere Trennung erreicht.

7. Identifikation und Quantifizierung

Adm, Adm-ol und Adm-on wurden unter einer Desaga-Uvis UV Lampe bei 254 nm identifiziert und markiert, ausgeschnitten und in Polyäthylen Szintillatorfläschchen (Zinsser 7-4/1B) 12 - 16 h eluiert: Adm und Adm-ol mit 2 ml eines Gemisches von Methanol/Wasser/1 N Salzsäure 45 + 5 + 1, Adm-on mit 2 ml eines Gemisches von Chloroform/Methanol 3:1 (2+1).
Die Elutionslösung wurde in PPN-Röhrchen abgekippt und nach Absedimentation 1 ml in einem Aminco-Bowman Ratio Spectrofluorometer bei 475 nm Exzitation und 550 nm Emission gemessen. Die relativen Intensitätswerte wurden anhand einer Eichkurve quantifiziert. Abhängig von der Extraktionsrate aus Plasma wurden diese Konzentrationen mit dem entsprechenden Faktor multipliziert: mit 1,67 bei Adm und Adm-ol und mit 2,0 bei Adm-on (30).
Für die Konzentrationsangaben in Leukozyten, Gewebe und Gallensaft wurden dieselben Extraktionsraten wie für Plasma angenommen, da es im wesentlichen auf die Relationen ankommt. Bei Leukozyten und Gewebe ist es nicht möglich, solche Raten zu bestimmen, weil wegen der möglichen Ein- und Auswärtsdiffusion keine Zellsuspensionen mit bekannten Konzentrationen an Adm hergestellt werden können.

8. Pharmakokinetisches Modell

Als pharmakokinetisches Modell wurde den Berechnungen das offene Zweikammermodell bei intravenöser Applikation zugrundegelegt. Die Bewegungen der Blutkonzentration einer Substanz lassen sich damit näherungsweise erfassen (35). Die HWZ_v und die HWZ_{el} wurden aus der graphischen Darstellung bestimmt.
Die Eliminationskonstante k_{el} wird dann nach

$$k_{el} = \frac{\ln 2}{t\ 50\ \%}$$ berechnet.

Die Konzentration y_o der Fremdsubstanz nach einer applizierten Dosis D in einem Volumen V zum Zeitpunkt t = O beträgt

$$y_o = \frac{D}{V} .$$

Durch Umformen dieser Gleichung läßt sich nach

$$V = \frac{D}{y_o}$$

das Verteilungsvolumen näherungsweise angeben.
(Zur Problematik dieser einfachen Bestimmung der Halbwertszeit bzw. des Verteilungsvolumens s. Wagner (63).)
Der Distributionskoeffizient , erhalten nach

$$\triangle = \frac{V\ (l)}{KG\ (kg)}$$ V = Verteilungsvolumen in Litern
KG = Körpergewicht

besagt, in wieviel l = kg des Organismus pro kg Körpergewicht der Fremdstoff enthalten ist.

Die Größe der Fläche unter der Kurve ist abhängig

a) von der Steigung im linearen Teil der Plasmaspiegelkurve
b) von der Höhe der Plasmakonzentration der Substanz beim Übergang vom steilen in den linearen Teil der Kurve.

Ein Maß für a) ist die Eliminationshalbwertszeit bzw. die Eliminationskonstante k_{el}, für b) y_{oel}, erhalten durch Extrapolation der Regressionsgeraden im linearen Teil der Kurve über die Zeit t nach O.
So kann man nach

$$F = y_{oel} \cdot \frac{1}{k_{el}}$$

ein relatives Maß für die Fläche unter der Kurve angeben, das für den Vergleich zwischen den unterschiedlichen Pharmakokinetiken der einzelnen Patienten brauchbar ist.

C Ergebnisse

1. Beschreibung der Plasmaspiegel

Bei acht Patienten wurden Plasmaspiegel von Adm, Adm-ol und Adm-on gemessen, davon bei zweien mehrmals. Tabelle 2 gibt Auskunft über die Erkrankungen der untersuchten Patienten.
Über die Therapieschemata, nach denen die Patienten behandelt wurden, informiert Tabelle 3.
Aus den Daten der Patienten wurden Mittelwerte gebildet. Die Werte der Patientin Vo, M wurden hierbei nicht berücksichtigt, da bei ihr das Serumbilirubin erhöht war und somit eine Exkretionsstörung vorlag, ebenso die Daten des zweiten Therapiezyklus des Patienten Fe, A (Fe, A 2), da die Eliminationshalbwertszeiten fast dreimal so groß wie der Durchschnittswert waren.

1.1. Adm-Plasmaspiegel (Tab. 4)

Von dem Durchschnittswert für die Verteilungshalbwertszeit von 0,15 h weichen nur die Werte zweier Patienten, Vo, M und Sch, G I,2 deutlich ab. Adm verteilt sich offenbar, wie die kurze Verteilungshalbwertszeit und das große Verteilungsvolumen vermuten lassen, sehr rasch nicht nur im Plasma, sondern diffundiert in weitere Flüssigkeits- und Gewebskompartimente ab. Es läßt sich kein Anstieg der HWZ_v bei Patienten mit höherer Dosierung gegenüber solchen mit niedriger beobachten. Die Standardabweichung vom Mittelwert beträgt nur 16 %. Man kann deshalb feststellen, daß die HWZ der Verteilungsphase des Adm relativ unabhängig von der Höhe der Dosis ziemlich konstant ist.

Tab. 2: Erkrankungen der untersuchten Patienten

Patient		Diagnose
Vo, M	w	Progressives Mammaca, Lebermetastasen
Sch, G	w	Ewing Sarkom des linken Oberschenkels Metastasen: Lunge, linkes Os pubis
Lö, R	w	Exulcerierendes progressives Mammaca Metastasen: Pleura, mediastinal, supraclaviculär, axillär
Fe, A	m	Oberschenkelamputation wegen osteogenen Sarkoms der rechte Tibia
Bi, M	w	Mammaca Hautmetastasen an der Thoraxwand
Ge, E	w	Ausgedehnte Knochenmetastasierung bei unbekanntem Primärtumor
Wi, G	w	Progressives Mammaca Metastasen: Sitzbeine, BWS
En, K	m	Oberschenkelamputation wegen paraosgalem Osteosarkoms Metastasen: Lunge, rechtes Hüftgelenk, Oberschenkelstumpf
Boe, J	w	Progressives Mammaca Verdacht auf Lebermetastasen

Tab. 3: Angewandte Therapieschemata

Patient	Therapieschema
Vo, M	Salmon-Jones Schema (58) in reduzierter Dosis Tag 1 Adm 20 mg/m^2 Tag 3 - 6 Cyclophosphamid 100 mg/m^2
Sch, G	Rosen Schema (57) Tag 1 - 4 Actinomycin D 35 mg/m^2 Tag 20 - 22 und 40 - 42 Adm 20 mg/m^2 Tag 54 und 68 Vincristin 1,7 mg/m^2 Cyclophosphamid 1200 mg/m^2 Tag 61 und 75 Vincristin 1,7 mg/m^2
Lö, R	Salmon-Jones Schema in reduzierter Dosis Tag 1 Adm 30 mg/m^2 Tag 3 - 6 Cyclophosphamid 150 mg/m^2
Fe, A	Tag 1 Adm 60 mg/m^2 Tag 1 und 5 Vincristin 1 mg/m^2 Tag 1 - 5 DTIC 250 mg/m^2
Bi, M	Salmon-Jones Schema (modifiziert) Tag 1 Adm 40 mg/m^2, Vincristin 1 mg/m^2 Tag 3 - 6 Cyclophosphamid 200 mg/m^2
Ge, E	wie bei Bi, M
Wi, G	wie bei Bi, M
En, K	CYVADIC Schema (37) Tag 1 Adm 50 mg/m^2 Cyclophosphamid 500 mg/m^2 Tag 1 und 5 Vincristin 1 mg/m^2 Tag 1 - 5 DTIC 250 mg/m^2
Boe, J	wie bei Bi, M

Bei Betrachtung der HWZ_{el} ergibt sich ein ähnliches Bild. Die Zeiten von fünf Patienten fallen aus dem Bereich von x + s : Vo, M mit 132 h und Fe, A 2 mit 90 h liegen deutlich, Sch, G I,3 mit 58 h nur gering höher, Fe, A 1 mit 20,1 h und Sch, G II,1 mit 20,8 h tiefer. Die Eliminationskonstanten k_{el} korrelieren mit diesen Werten.
Die großen Verteilungsvolumina von Adm zeigen, daß sich die Substanz nicht nur im Plasma oder in der Extrazellulärflüssigkeit verteilt, sondern sehr rasch, wie die kurzen HWZ_v beweisen, in andere Räume abdiffundiert.Die Werte für den Distributionskoeffizienten liegen deshalb sämtlich weit über 1 und bestätigen, daß Konzentrationsanreicherungen in tieferen Kompartimenten vorliegen.
Die entscheidende Variable bei der Berechnung des Verteilungsvolumens ist y_{oel}. Abgesehen von der bekannten Akkumulation von Adm im Gewebe sind diese großen Verteilungsvolumina einerseits durch das schnelle Entstehen der Metabolite, insbesondere des rasch in relativ hoher Konzentration vorhandenen Adm-ol, andererseits durch die früh beginnende Exkretion über die Galle bedingt (s. Gallensaftanalysen). Beide Prozesse senken frühzeitig den Plasmaspiegel von Adm und damit auch den Wert von y_{oel}. Da, wie später ausgeführt wird, das Exkretionsverhalten sehr verschieden ist, sind die z. T. erheblichen Abweichungen vom Mittelwert im wesentlichen hiermit zu erklären.
Die Flächen unter der Kurve, ausgedrückt als conc . t (Konzentration . Zeit), ergeben zusammen mit den langen Halbwertszeiten brauchbare Parameter für die Beurteilung der Plasmaspiegel bzw. für das Eliminationsgeschehen. Vier Flächenwerte weichen deutlich nach oben ab, wobei die beiden mit der beschriebenen langen HWZ_{el} herausragen, Vo, M mit $4{,}95 \cdot 10^{-6}$ g/ml.h und Fe, A 2 mit 10.10^{-6} g/ml.h.
Ein sehr niedriger Wert mit 0,4 bei der Patientin Ge, E zeigt an, daß es hier insgesamt zu einem raschen Abfall der Plasmakonzentration kam. Die HWZ_{el} liegt nur knapp unter dem Mittelwert, y_{oel} ist jedoch von den untersuchten Patienten am kleinsten, damit wird auch der Wert für die Fläche klein.

Tab. 4: Adm-Plasmaspiegel

Patient	Adm-Dosis	HWZ_v	HWZ_{el}	k_{el}	V	F	$\triangle$	y_{oel}
	mg/m^2	h	h	h^{-1}	l	$.10^{-6}$ g/ml.h	l/kg	$g/ml.10^{-8}$
Vo, M	20	0,23	132	0,0053	1346	4,95	20	2,6
Sch, G	1. 20	0,17	49,8	0,014	698	3,1	15,5	4,3
I	2. 20	0,20	52	0,013	682	3,3	15,2	4,4
	3. 20	0,18	58	0,012	732	3,4	16,3	4,1
	1. 20	0,17	20,8	0,033	882	1,0	19,6	3,4
II	2. 20	0,13	30	0,023	1154	1,1	25,6	2,6
	3. 20	0,12	50,4	0,014	1000	2,1	22,2	3,0
Lö, R	30	0,18	27	0,026	1250	1,54	20	4,0
Fe, A	3. 30	0,14	28	0,025	2500	0,8	43	2,0
Bi, M	40	0,14	43	0,016	2121	2,0	30	3,2
Ge, E	40	0,13	36,5	0,019	8750	0,4	106	0,76
Wi, G	40	0,14	51,2	0,0136	3125	1,18	56	1,6
En, K	50	0,17	35,8	0,019	4286	1,06	63	2,06
Fe, A	1. 60	0,12	20,1	0,035	4000	0,69	58	2,4
	2. 60	0,15	90	0,0077	1282	10,0	22	7,8
Mittelwert $\bar{x}$		0,15	38,7	0,02	2189	2,26		
Standardabweichung s $\pm$		0,025	12,9	0,006	2257	2,4		

Die Patienten Fe, A 2 und Vo, M wurden bei der Berech nung des Mittelwertes und der Streuung nicht berücksichtigt.

1.2. Adm-ol-Plasmaspiegel (Tab. 5)

Die Ergebnisse der Plasmaspiegelanalyse des quantitativ wichtigsten Metaboliten ähneln weitgehend denen von Adm. So findet man auch hier die sehr langen HWZ_{el} und den im Verhältnis zum Mittelwert um ein mehrfaches größeren Flächen bei den Patienten Vo, M und Fe, A 2. Auch die anderen auffälligen Werte sind oben schon beschrieben worden. Bei den Werten für die Fläche unter der Kurve gibt es allerdings Abweichungen. Nur gering erhöht sind die Werte für Sch, G I,2 mit 1,8 und Sch, G II,3 mit 1,55. Deutlich erniedrigt ist der Wert bei der Patientin Ge, E mit O,27.

1.3. Adm-on-Plasmaspiegel (Tab. 6)

Auch für den nach Adm-ol quantitativ wichtigsten Metaboliten, das Aglykon Adm-on, gilt, was für Adm bereits ausgeführt wurde. Die HWZ_{el}, Eliminationskonstanten und Flächenwerte der Patienten Vo, M und Fe, A 2 weichen weit vom Mittelwert ab. Drei verlängerte HWZ_{v} fallen auf: Sch, G II,1 mit O,53, Fe, A 2 mit O,47 und Fe, A 3 mit O, 53 h. Nur bei Fe, A 2 ist auch die HWZ_{el} über x + s verlängert. Im Gegensatz zu den anderen Patienten mit langen HWZ_{el} ist die Fläche unter der Kurve bei der Patientin Ge, E mit O,265 trotz der sehr langen HWZ_{el} von 84 h klein, weil y_{oel} von allen Spiegeln am niedrigsten liegt. Dies galt bei dieser Patientin auch für Adm und Adm-ol, da sich alle drei Substanzen bei ihr durch einen raschen Konzentrationsabfall auszeichneten.

Tab. 5: Adm-ol-Plasmaspiegel

Patient		HWZ_v	HWZ_{el}	k_{el}	F	y_{oel}
Vo, M		0,27	148	0,0047	5,96	2,8
Sch, G	1.	0,25	42	0,0165	1,3	2,2
I	2.	0,30	51	0,0136	1,8	2,4
	3.	0,15	50	0,014	1,4	2
	1.	0,22	33,6	0,0206	0,95	1,95
II	2.	0,20	33,2	0,0208	0,99	2,05
	3.	0,17	56,6	0,012	1,55	1,86
Lö, R		0,22	33,6	0,021	1,0	2,1
Fe, A	3.	0,18	34,6	0,02	0,55	1,1
Bi, M		0,23	49	0,014	1,3	1,8
Ge, E		0,2	39,5	0,0175	0,27	0,48
Wi, G		0,14	51,6	0,0134	0,69	0,92
En, K		0,17	39	0,018	0,79	1,4
Fe, A	1.	0,17	20,5	0,034	0,53	1,8
	2.	0,15	106	0,0065	5,2	3,4
Mittelwert $\bar{x}$		0,2	41	0,018	1,0	
Standardabweichung s $\pm$		0,04	10	0,005	0,45	

Die Patienten Fe, A 2 und Vo, M wurden bei der Berechnung des Mittelwertes und der Streuung nicht berücksichtigt.

Tab. 6: Adm-on-Plasmaspiegel

Patient		HWZ_v	HWZ_{el}	k_{el}	F	y_{oel}
Vo, M		0,4	123	0,0056	2,5	1,4
Sch, G	1.	0,23	69	0,01	0,9	0,89
I	2.	0,3	48	0,14	0,46	0,64
	3.	0,23	43	0,016	0,66	1,06
	1.	0,53	68	0,01	0,86	0,86
II	2.	0,17	65	0,01	0,54	0,54
	3.	0,22	56	0,012	0,3	0,36
Lö, R		0,24	41	0,017	0,32	0,54
Fe, A	3.	0,53	43,5	0,016	0,41	0,66
Bi, M		0,2	48,3	0,014	0,37	0,52
Ge, E		0,32	78	0,009	0,24	0,22
Wi, G		0,28	53,6	0,013	0,37	0,49
En, K		0,3	61,8	0,011	0,43	0,47
Fe, A	1.	0,37	49	0,014	0,44	0,26
	2.	0,47	99	0,007	2,3	1,6
Mittelwert $\bar{x}$		0,31	55,8	0,013	0,49	
Standardabweichung $s \pm$		0,12	11,7	0,003	0,21	

Die Patienten Fe, A 2 und Vo, M wurden bei der Berechnung des Mittelwertes und der Streuung nicht berücksichtigt.

2. Vergleich der Plasmaspiegelanalysen von Adm, Adm-ol und Adm-on

Die Mittelwerte der HWZ_v und der HWZ_{el} liegen für die Metabolite deutlich höher bzw. für die Eliminationskonstanten tiefer im Vergleich zur Muttersubstanz. Die HWZ_v von Adm-ol ist um 0,05 h und von Adm-on um 0,15 h länger als von Adm mit einem Mittelwert von 0,15 h.
Der Mittelwert der HWZ_{el} von Adm-ol ist 2,3 h, der von Adm-on 17,1 h länger als der Mittelwert der HWZ_{el} von Adm mit 38,7 h. Die Mittelwerte der Flächen unter den Kurven nehmen von Adm über Adm-ol zu Adm-on kontinuierlich ab. Wenngleich die verlängerten HWZ_{el} von Adm-ol und Adm-on in die Flächenberechnung über die Eliminationskonstante eingehen, spielt die größere Rolle doch die Konzentration, und hier ist der Wert von y_{oel} für Adm am größten, gefolgt von Adm-ol und Adm-on. Dieser Wert ist natürlich abhängig von der applizierten Dosis. Es läßt sich aber keine eindeutige Korrelation zwischen der verabreichten Menge an Adm und der Größe der Fläche unter der Kurve bzw. von y_{oel} aufstellen.

3. Graphische Darstellung und Beschreibung der Plasmaspiegel von vier Patienten

Beispielhaft sollen von vier Patienten Plasmaspiegelverläufe in halblogarithmischer Darstellung gezeigt werden.
Man kann die Plasmaspiegelkurven der Patientin Lö, R (Abb. 4) als triphasisch beschreiben. Zwischen der raschen Verteilungsphase und der langen Exkretionsphase läßt sich eine Phase erkennen, die sich von den beiden anderen unterscheidet. Ihr Beginn ist nicht ganz eindeutig abzugrenzen und scheint bei den drei Substanzen nicht gleichzeitig zu sein.

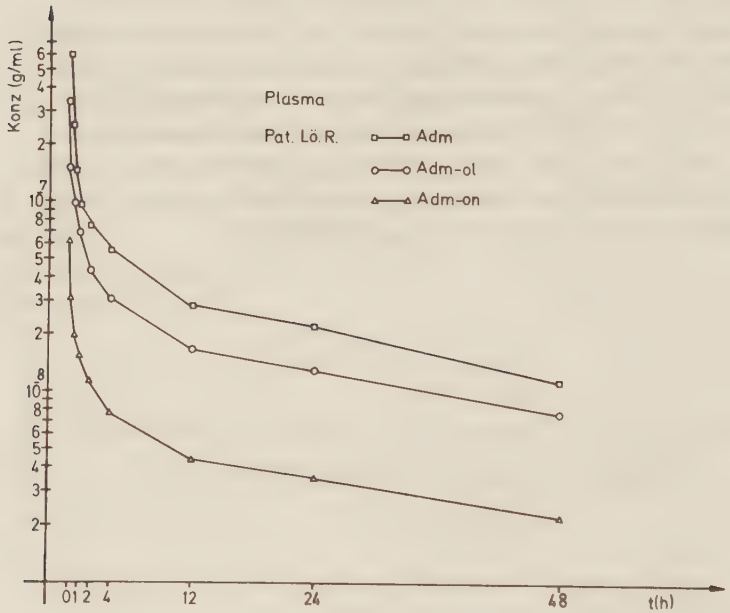

Abb. 4: Plasmaspiegel der Patientin Lö, R

In der Geschwindigkeit des Konzentrationsabfalls liegt dieser Teil zwischen den beiden pharmakokinetisch klar unterschiedenen Phasen.
Auffallend ist, daß schon 5 min nach der Injektion eine im Verhältnis zur Muttersubstanz hohe Konzentration von Adm-ol, etwa 55 % der von Adm, nachweisbar ist. Die von Adm-on liegt etwa um eine Zehnerpotenz unter der von Adm-ol.
Die Plasmaspiegel des Patienten En, K (Abb. 5) weisen ähnliche Charakteristika wie die vorher beschriebenen auf. Die Anfangskonzentrationen von Adm und Adm-ol sind höher als bei der vorherigen Patientin, jedoch nicht die von Adm-on.

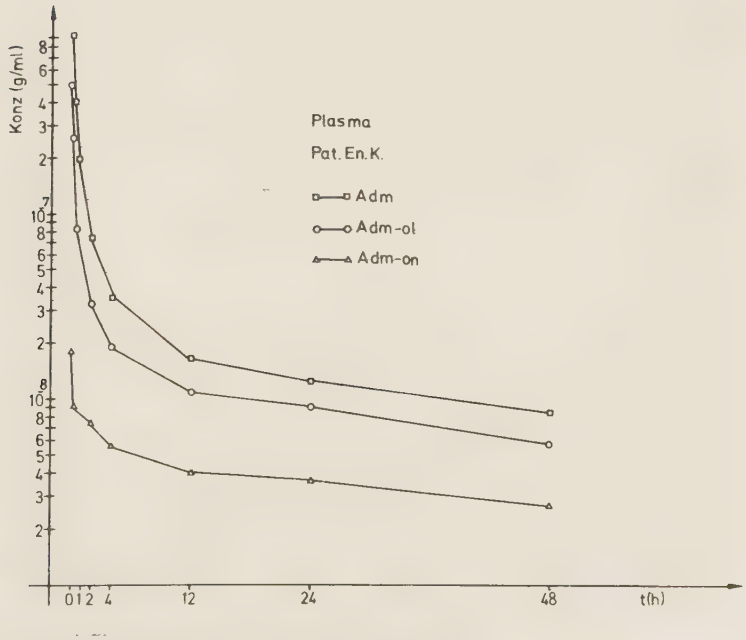

Abb. 5: Plasmaspiegel des Patienten En, K

Die Kurven von Adm und Adm-ol verlaufen im Anfangsteil steiler und in der Exkretionsphase etwas flacher als bei der Patientin Lö, R. Bei beiden Patienten bewegen sich die Konzentrationen in der Exkretionsphase in dem selben Bereich.
Die Kurven der Patientin Ge, E (Abb. 6) unterscheiden sich wie die von En, K von der ersten durch einen ausgeprägteren Abfall von Adm und Adm-ol in der Anfangsphase. Die Konzentrationen in der Exkretionsphase liegen deutlich unter denen der beiden vorher beschriebenen. Man findet hier die niedrigsten Werte von allen untersuchten Patienten.

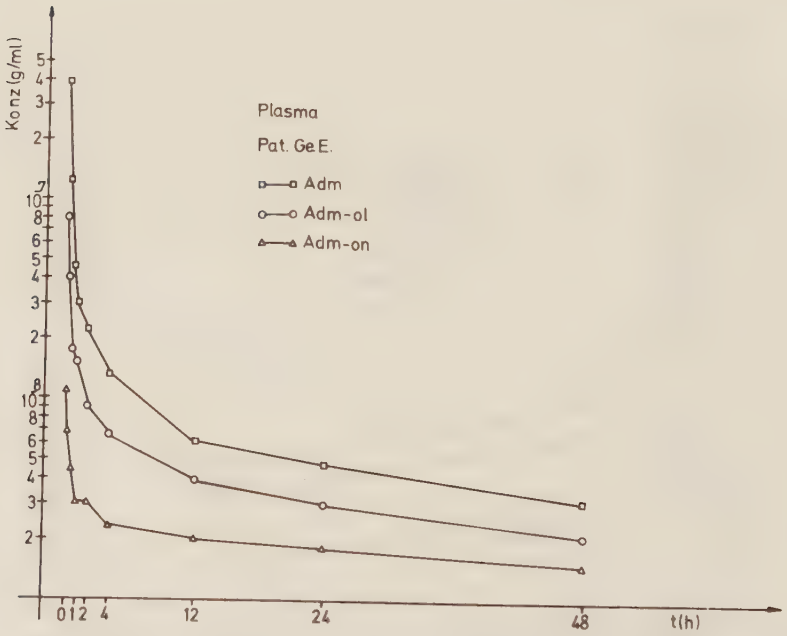

Abb. 6: Plasmaspiegel der Patientin Ge, E

Auffallend ist bei der Adm-on-Kurve, daß bereits nach vier Stunden eine Konzentration erreicht ist, die in den nächsten 44 Stunden nur noch geringfügig abnimmt. Die HWZ_{el} ist mit 84 h dadurch deutlich erhöht.
Bei der Patientin Wi, G (Abb. 7) wurden Plasmaspiegel 70 Stunden lang gemessen. Die Anfangskonzentration des Adm, weniger die des Adm-ol, ist sehr hoch. Dem raschen Konzentrationsabfall in der Anfangsphase folgt im Gegensatz zur vorigen Patientin ein langsamerer Übergang in die Exkretionsphase. Die HWZ_{el} von Adm und Adm-ol liegen höher, ebenso die Konzentrationen, somit ergeben sich auch grössere Werte für die Flächen unter den Kurven als bei Ge, E: 2,5fach höhere bei Adm-ol und dreifach höhere bei Adm.

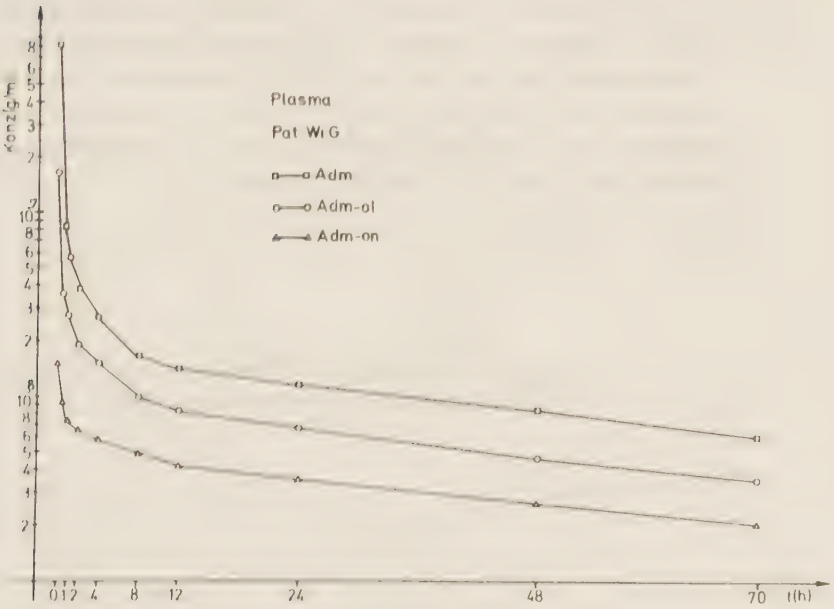

Abb. 7: Plasmaspiegel der Patientin Wi, G

4. Plasmaspiegel zweier mehrmals untersuchter Patienten

4.1. Beschreibung der Kurven der Patientin Sch, G (Abb. 8 und 9)

Die Plasmaspiegel verlaufen ungefähr in typischer Weise. Aber nicht bei allen läßt sich die Phase zwischen Verteilung und Elimination klar nachweisen.
Die Anfangs- und Endkonzentrationen von Adm und Adm-ol bewegen sich bei allen sechs Kurven auf nahezu demselben Niveau, während die nach 24 h gemessenen Konzentrationen von Adm-on in den Kurven II, 1 - 3 abnehmen und bei Kurve II, 3 weniger als halb so groß wie bei II, 1 sind.
Die HWZ_{el} von Adm sind nach dem ersten Adm-Stoß länger als beim zweiten, nehmen aber bei beiden Therapiezyklen von der ersten bis dritten Gabe kontinuierlich zu, im Gegensatz zu Adm-on, bei dem wir das umgekehrte Verhalten erkennen. Die HWZ_{el} von Adm-ol zeigt keine derartige Bewegung, sie ist nur beide Male nach der dritten Gabe wesentlich länger als nach der ersten.

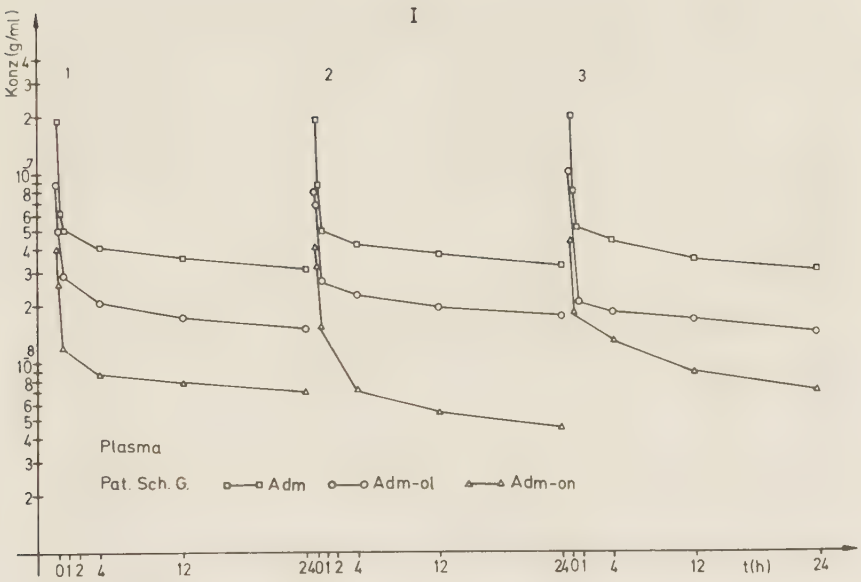

Abb. 8: Plasmaspiegel der Patientin Sch, G
nach dem ersten Therapiezyklus (I)

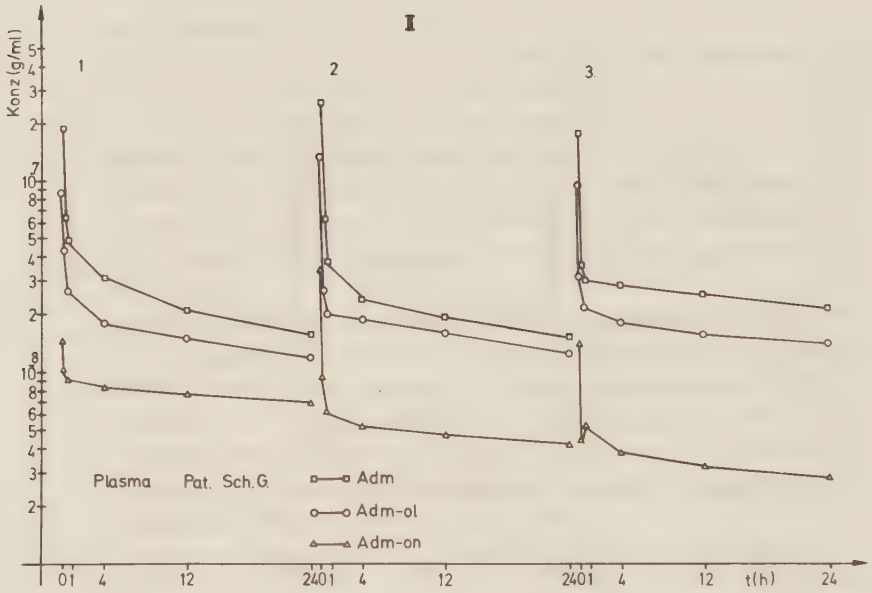

Abb. 9: Plasmaspiegel der Patientin Sch, G
nach dem zweiten Therapiezyklus (II)

4.2. Beschreibung der Kurven des Patienten Fe, A (Abb. 10, 11 und 12)

Nach dem ersten Therapiezyklus liegen die HWZ_{el} im Normbereich, obgleich die von Adm-on mit 49 h nahezu zweieinhalbmal so lang wie die von Adm ist. Die HWZ_{el} nach dem zweiten Stoß sind mit 90 bzw. 106 bzw. 99 h stark verlängert. Die Konzentration von Adm ist nach 48 h etwa zwölfmal, die von Adm-ol etwa siebenmal und die von Adm-on etwa dreimal so hoch wie nach dem ersten Stoß.

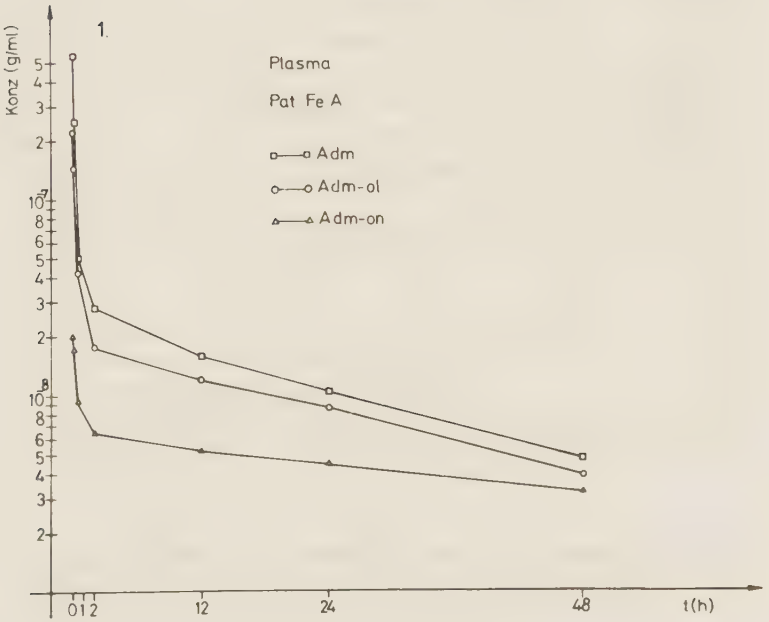

Abb. 10: Plasmaspiegel des Patienten Fe, A nach dem ersten Stoß (1.)

Die Dosis der dritten Gabe wurde wegen einer Leukopenie von 3 200 Zellen/ul auf die Hälfte reduziert. Dadurch wurde erreicht, daß sich die Plasmaspiegel wieder normalisierten, wenngleich die HWZ_{el} von Adm 8 h und die von Adm-ol 14 h länger sind als nach dem ersten Therapiezyklus. Die HWZ_{el} von Adm-on liegt mit 43,5 h 5,5 h unter der nach der ersten Gabe.

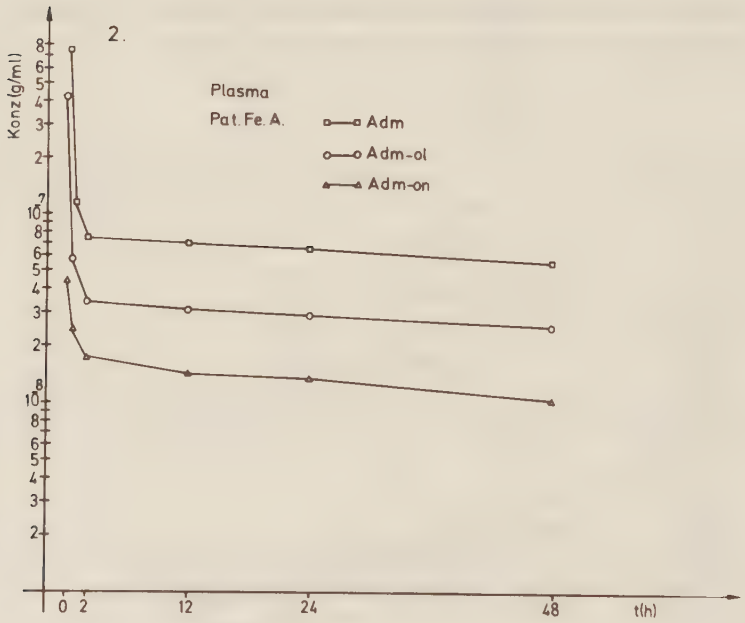

Abb. 11: Plasmaspiegel des Patienten Fe, A nach dem zweiten Stoß (2.)

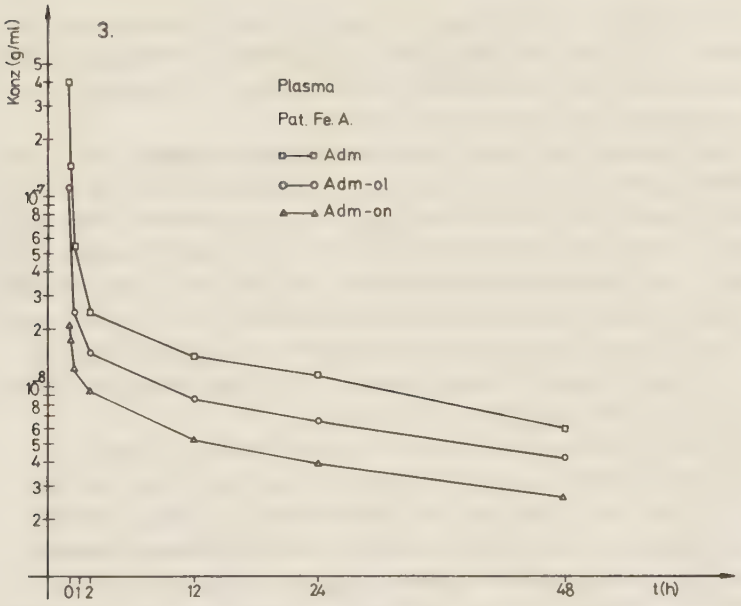

Abb. 12: Plasmaspiegel des Patienten Fe, A nach dem dritten Adm-Stoß (3.)

5. Konzentrationen von Adm in den Leukozyten dreier Patienten

Die Bestimmung der Konzentration von Adm in den Leukozyten wurde unter dem Gesichtspunkt durchgeführt, daß Leukozyten das Gewebe sind, welches am einfachsten, auch mehrmals hintereinander, gewonnen werden kann.[1)]
In den Leukozyten kommt es wie in anderen Geweben zu einer Akkumulation von Adm und seiner Metabolite. Etwa 80 bis 250 fach höhere Konzentrationen als im Plasma wurden gemessen. Meist findet man bereits 5 min nach einer Adm-Injektion relativ hohe Konzentrationen sowohl von Adm als auch von Adm-ol und Adm-on, einen Konzentrationsabfall in den nächsten Stunden und wieder einen Anstieg nach 24, häufiger nach 48 h. Diese Beschreibung trifft in der Hauptsache für Adm und Adm-ol zu, seltener für Adm-on.
Das erste Maximum wird bei der Patientin Sch, G (Abb. 13 und 14) von Adm in fünf, von Adm-ol in drei und von Adm-on in zwei von sechs Kurven nach 5 min erreicht. Die Konzentration von Adm liegt in vier von sechs Kurven nach 24 h über der Anfangskonzentration und einmal genauso hoch. Adm-ol hat nach 24 h in drei von sechs Kurven ein zweites Maximum, das über dem ersten liegt.
Die Konzentration von Adm-on in den Leukozyten hat in vier von sechs Kurven zu 24 h eine fallende Tendenz.
Die Konzentrationen aller drei Substanzen, die 5 min nach der Adm-Injektion gemessen wurden, sind in beiden Therapiezyklen größer als jene, die 24 h nach der vorangegangenen Injektion bestimmt worden waren. Das ist leicht verständlich, da zu der bereits in den Leukozyten vorhandenen Konzentration die nach der erneuten Adm-Injektion von den Zellen akkumulierte Menge noch hinzukommt.

1) Beim Waschen der Leukozyten kommt es natürlich zu einer Konzentrationsminderung, die aber wegen der Standardisierung des Waschvorgangs bei allen Proben gegeben ist.

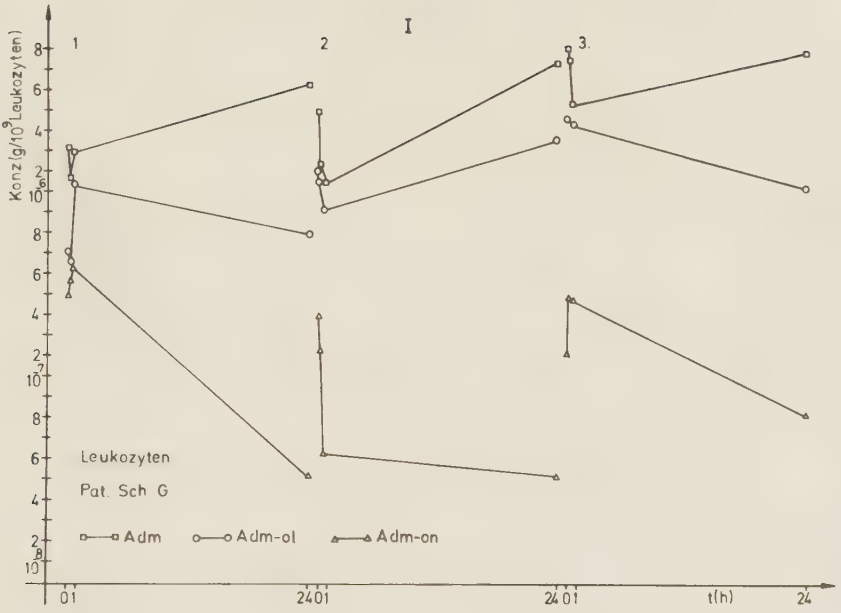

Abb. 13: Leukozytenspiegel der Patientin Sch, G
nach dem ersten Therapiezyklus (I)

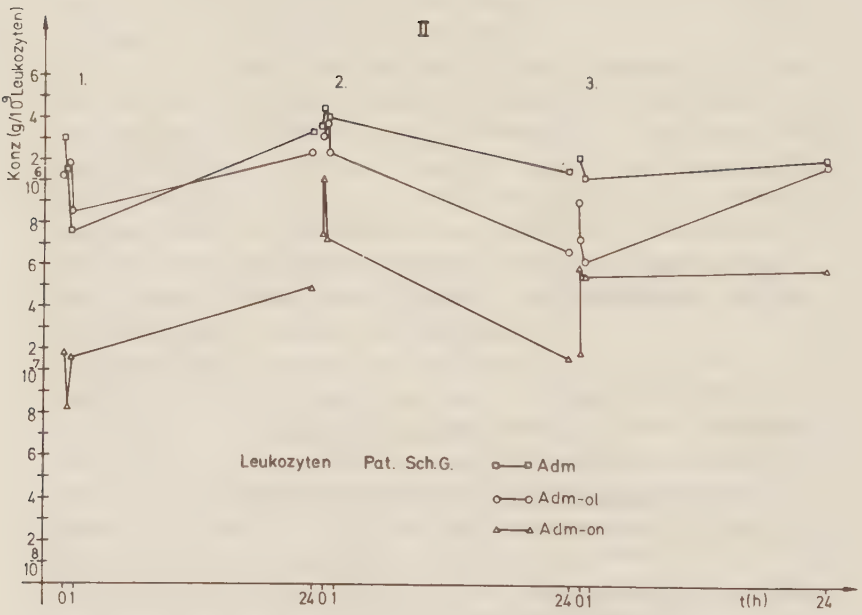

Abb. 14: Leukozytenspiegel der Patientin Sch, G
nach dem zweiten Therapiezyklus (II)

Die Patientin Bi, M (Abb. 15) erreicht bei allen drei Substanzen die höchste Konzentration nach 10 min. Darauf folgt ein Abfall und nach 48 h wieder ein geringer Anstieg von Adm und Adm-ol, deren Konzentrationen, wie auch die von Adm-on, unter der des ersten Maximums liegt.

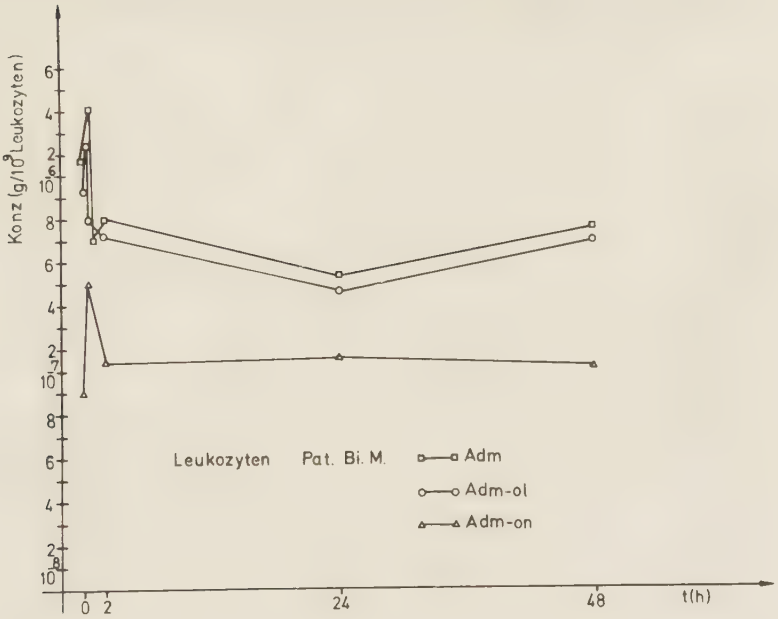

Abb. 15: Leukozytenspiegel der Patientin Bi, M

Bei den Leukozytenspiegeln des Patienten Fe, A (Abb. 16, 17, 18) läßt sich eine Abhängigkeit vom Plasmaspiegelverlauf darstellen. Nach der ersten Injektion, bei der die Plasmaspiegel keine Auffälligkeiten boten, haben Adm und Adm-ol ein Maximum nach 10 min und Adm-on nach einer halben Stunde. Auf einen geringen Abfall folgt ein kontinuierlicher Anstieg bei allen drei Substanzen bis zu 48 h. Bei Adm-ol liegt der 48 h -Wert deutlich über dem ersten Maximum, bei Adm etwa auf derselben Höhe.

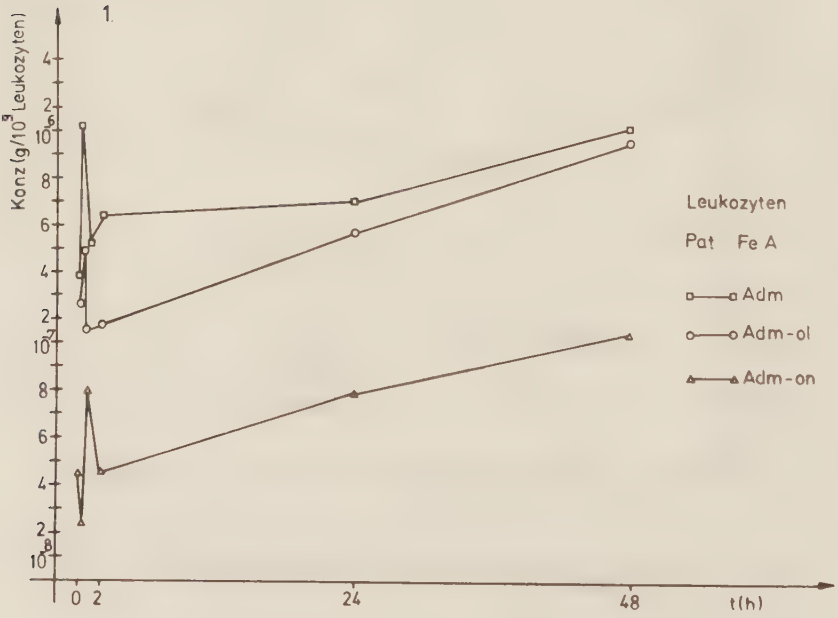

Abb. 16: Leukozytenspiegel nach dem ersten Stoß (1.)

Nach der zweiten Injektion kam es trotz gleicher Dosis zu auffallend verlängerten HWZ_{el} . Das erste Maximum von Adm findet man bereits nach 5 min, von Adm-ol und Adm-on nach 10 min. Die Konzentration des Adm ist nach 48 h sechsmal, die des Adm 2,5mal so hoch wie nach der ersten Gabe, die von Adm-on liegt nur wenig höher. Vermutlich erfolgte die ausgiebigere Akkumulation in den Zellen wegen des über längere Zeit größeren Angebots.

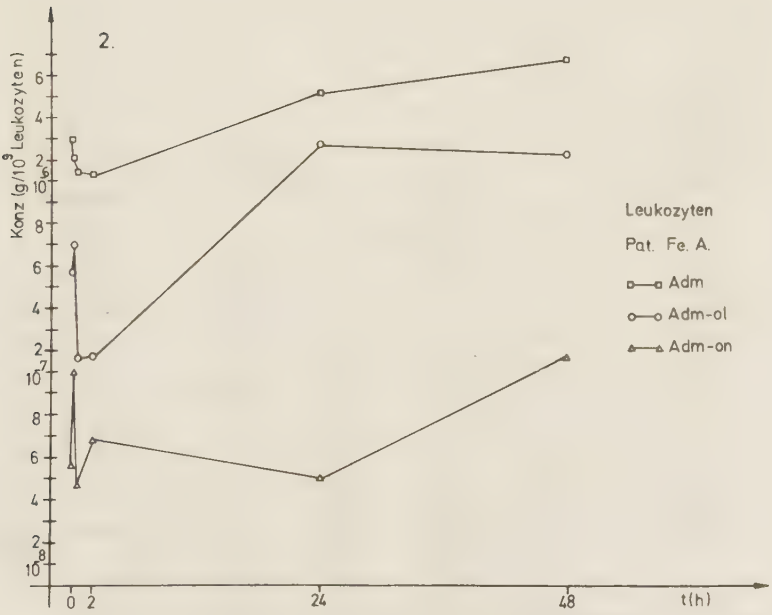

Abb. 17: Leukozytenspiegel nach den zweiten Stoß (2.)

Für die dritte Injektion wurde die Dosis wegen der erwähnten Leukopenie auf die Hälfte reduziert. Danach fand man normale Plasmaspiegel und Leukozytenkonzentrationen, welche große Ähnlichkeit mit denen nach der ersten Gabe aufwiesen. Auch hier trat bei Adm und Adm-ol das absolute Maximum nach 48 h auf, bei Adm-on hingegen sieht man nach einem Maximum bei 30 Minuten einen abfallenden Konzentrationsverlauf.

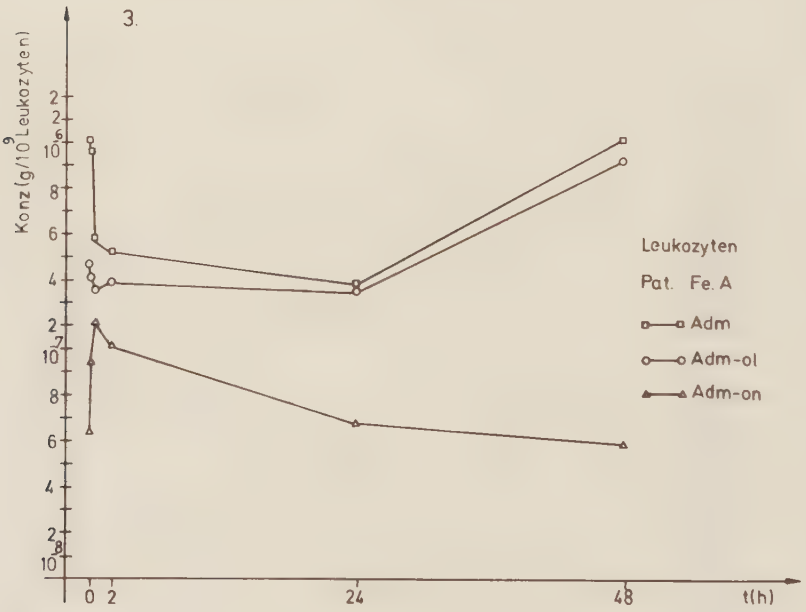

Abb. 18: Leukozytenspiegel nach dem dritten Stoß (3.)

6. Gallensaftanalysen

Bei zwei Patientinnen, Ge, E und Wi, G, wurden 150 bzw. 180 min lang Gallensaftkonzentrationen gemessen und mit dem Verlauf der Plasmaspiegel korreliert. Zu beachten sind die unterschiedlich hohen Konzentrationen (Abb. 19 und 20). Die Konzentrationen aller drei Substanzen liegen bei der Patientin Ge, E um mehr als eine Zehnerpotenz höher als bei der Patientin Wi, G.

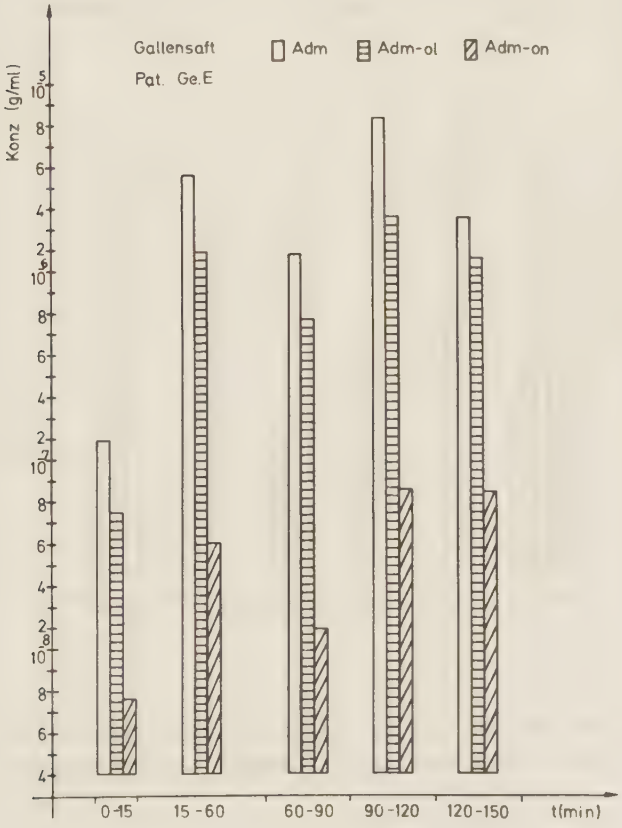

Abb. 19: Gallensaftkonzentrationen der Patientin Ge, E

Bereits nach 15 min wurden von beiden außer Adm auch Metabolite ausgeschieden.

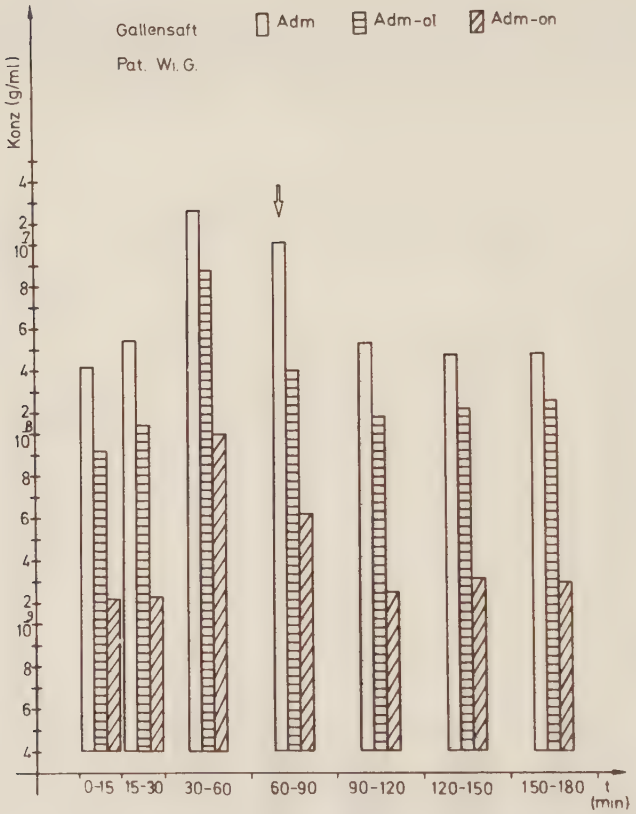

Abb. 20: Gallensaftkonzentrationen der Patientin Wi, G (Der Pfeil markiert den Beginn der Verdünnung mit Magensaft.)

Nach einem steilen Anstieg bei der Patientin Ge, E, der wahrscheinlich durch das längere Zeitintervall bedingt ist, bewegen sich die Konzentrationen der restlichen Sammelperioden auf einem ähnlichen Niveau.
Bei der Patientin Wi, G ist der Anstieg allmählicher, aber doch deutlich im Intervall von 30 bis 60 min. Nach 60 min wurde eine Verdünnung mit Magensaft beobachtet. Zieht man diese Konzentrationsminderung in Betracht, kann man wie oben sagen, daß sich die Konzentrationen auf einem nur geringfügig schwankenden Niveau einpendeln.
Bei beiden ändert sich das Verhältnis der Metabolite zu Adm (Tab. 7 und 8).

Tab. 7 Ge, E

t	Adm/Adm-ol		Adm/Adm-on	
min	Plasma	Galle	Plasma	Galle
15	3	2,6	17,5	26
60	2	2,9	10	93
90	2,2	2,3	8,7	94
120	2,3	2,3	7	98
150	2,3	2,2	6,9	42

Tab. 8 Wi, G

15	3,6	4,5	20,8	19
30	2,3	3,8	8,7	24
60	2	3	7,6	26
90	2	2,7	6,7	18
120	2	3	5,7	21
150	2	2,2	5,4	15
180	1,9	1,9	5	16

Bei der Patientin Ge, E ist die Konzentration von Adm im Gallensaft schon nach 15 min nur noch 2,6 mal höher als die von Adm-ol. Dieses Verhältnis ändert sich bis zu 150 min nur noch geringfügig zugunsten von Adm-ol. Dagegen ist bei der Patientin Wi, G Adm nach 15 min noch in 4,5 mal höherer Konzentration vorhanden als Adm-ol. Die Konzentration von Adm-ol im Verhältnis zu Adm ist bei der Patientin Wi, G nach 15 min geringer als bei der Patientin Ge, E, nimmt aber kontinuierlich zu. Diese Bewegungen verlaufen im Plasma ähnlich.
Die Konzentration von Adm-ol in Relation zu Adm nimmt bei der Patientin Wi, G im Plasma bis 60 min zu und bewegt sich dann auf etwa demselben Niveau. Im Gallensaft ist der Anfangswert niedriger und der Anstieg langsamer. Nach 180 min kommt es zu einer Angleichung der Relationen in Plasma und Gallensaft. Im Plasma zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentrationen von Adm-on im Verhältnis zu Adm, nicht aber im Gallensaft. Die Adm-on-Konzentration nimmt bei der Patientin Wi, G im Plasma stärker zu als bei der Patientin Ge, E. Auch im Gallensaft findet man bei der Patientin Wi, G höhere Werte, die alle ungefähr gleich groß sind.
Entsprechend der unterschiedlich hohen Konzentrationen im Gallensaft sind die Werte für die Galle-Plasma-Konzentrationsverhältnisse bei der Patientin Ge, E wesentlich grösser als bei der Patientin Wi, G (Tab. 9).

Tab. 9: Galle-Plasma-Relationen

	Ge, E			Wi, G		
t	Adm	Adm-ol	Adm-on	Adm	Adm-ol	Adm-on
min						
15	3,5	2,5	1,3	0,15	0,13	0,18
30				0,7	0,4	0,24
60	187	118	20	4,6	3,2	1,35
90	70	64	7	2,3[x]	1,8[x]	0,9[x]
120	396	386	28	1,4	0,93	0,4
150	195	189	31	1,4	1,25	0,5
180				1,5	1,5	0,5

[x] ab hier Verdünnung mit Magensaft

Bis 60 min (Ge, E) bzw. 120 min (Wi, G) findet man für Adm gegenüber Adm-ol höhere Werte, danach verringern sich die Unterschiede. Bei der Patientin Ge, E wurden in 150 min insgesamt 1,3 % der applizierten Adm-Dosis als Adm, Adm-ol und Adm-on über die Galle eliminiert (Abb. 21), davon 71 % als Adm, 28 % als Adm-ol und 1 % als Adm-on.
Nach 180 min hatte die Patientin Wi, G 0,04 % über die Galle ausgeschieden, 76 % als Adm, 21 % als Adm-ol und 3 % als Adm-on (Abb. 22).
Die Patientin Ge, E hat somit in einer um 30 min kürzeren Zeit mehr als dreißigmal soviel über die Galle eliminiert als die Patientin Wi, G.

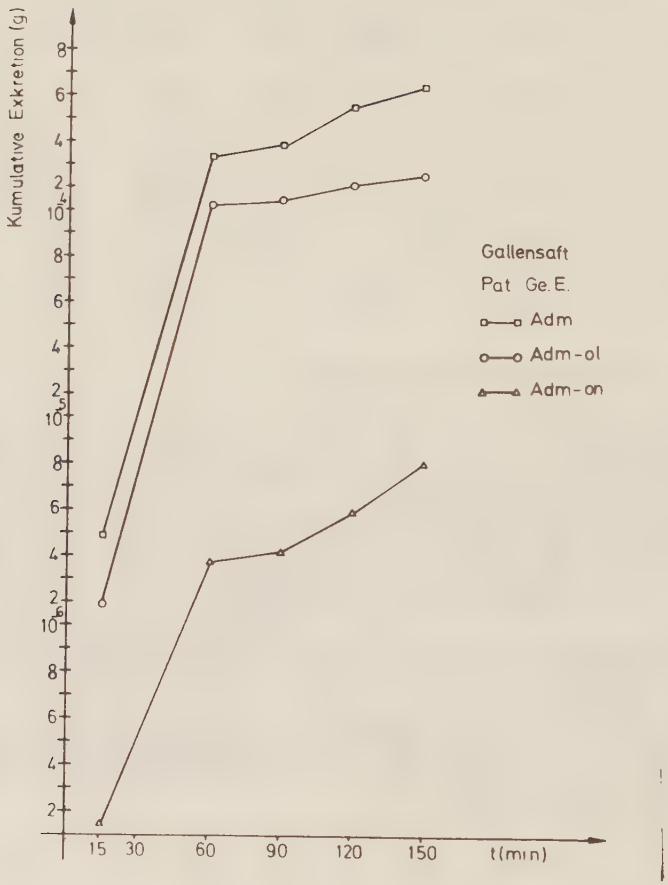

Abb. 21: Kumulative Exkretion bei der Patientin Ge, E

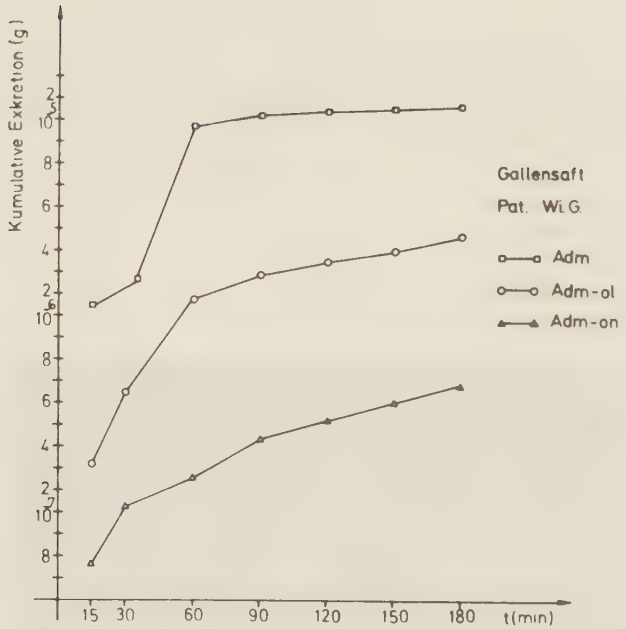

Abb. 22: Kumulative Exkretion bei der Patientin Wi, G

Auch bei der Zahl der Metabolite fallen die Unterschiede auf: bei der Patientin Ge, E wurden, wie aus Abb. 23 ersichtlich, acht differenziert, bei der Patientin Wi, G hingegen nur vier.

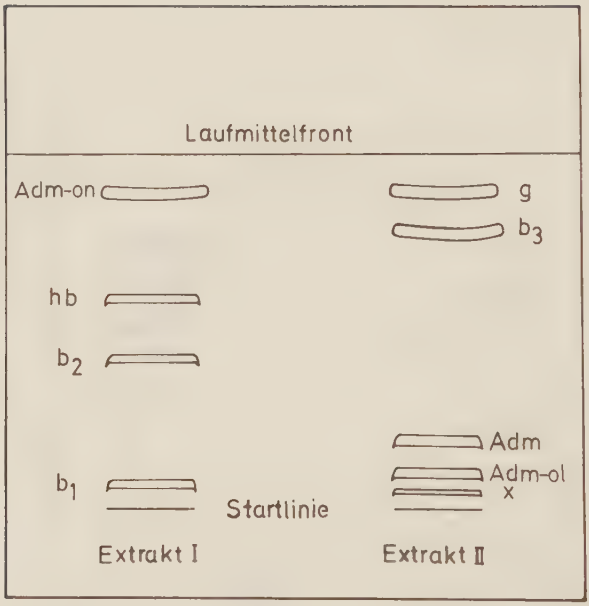

Abb. 23: Laufhöhe der bei der Patientin Ge, E differenzierten Metabolite

In den untersuchten Plasmen wurden abwechselnd drei bis fünf Metabolite gefunden, quantifiziert jedoch in der Regel nur Adm-ol und Adm-on. Im Gallensaft der Patientin Ge, E treten also mehr Metabolite auf als im Plasma nachgewiesen werden konnten, sei es infolge der dort geringeren Konzentration oder sei es weil manche Metabolite nicht ins Plasma gelangen.

Die Konzentration der anderen polaren Metabolite der Patientin Ge, E bewegte sich zwischen 1,3 und 2,5 . 10^{-7} g/ml Gallensaft, die der apolaren zwischen 4,4 . 10^{-8} und 3,5 . 10^{-7} g/ml Gallensaft.
Abb. 24 zeigt ein typisches Chromat ogramm der Patientin Ge, E, auf dem jedoch nur die Substanzen mit relativ hoher Konzentration zu sehen sind.

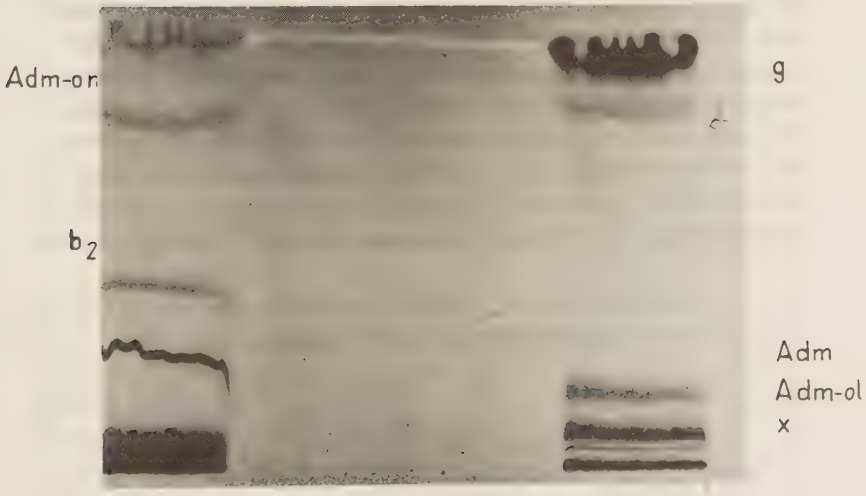

Abb. 24: Chromatogramm der Patientin Ge, E

7. Gewebekonzentrationen

Die Patientin Boe, I verstarb eine Woche nach der Adm-Gabe wegen einer fulminanten Lungenembolie im akuten Rechtsherzversagen. Bei der Obduktion wurden Gewebeproben aus Leber, Pankreas, Niere und Herz entnommen. Bei Betrachtung der DC-Platten gewann man den Eindruck, daß erstens die Konzentration an Adm und den beiden Metaboliten von 0,5 g Gewebe wesentlich höher als in 1 ml Plasma war und zweitens Adm-on mengenmäßig über Adm und Adm-ol dominierte. Es erfolgte eine photographische Dokumentation unter UV-Licht.
Zwei Monate später wurde einweiterer Extraktionsversuch aus den tiefgefrorenen Proben unternommen. Adm und Adm-ol waren nur noch in sehr geringen Mengen und nicht mehr in allen Gewebeextrakten vorhanden. Adm-on konnte noch gut nachgewiesen werden. Das Aglykon wurde dann wie beschrieben quantifiziert. Dies bestätigt den nach dem ersten Extraktionsversuch gewonnenen Eindruck, daß Adm-on in höherer Konzentration in den Geweben angereichert wurde als Adm und Adm-ol, da man dieselbe Konzentrationsabnahme über die Zeit annehmen kann.

Tab. 10: Konzentration von Adm-on pro Gramm Gewebe nach zweimonatiger Tiefkühllagerung

Herz	$6{,}9 \cdot 10^{-7}$ g
Niere	$3{,}06 \cdot 10^{-7}$ g
Leber	$1{,}42 \cdot 10^{-7}$ g
Pankreas	$9{,}2 \cdot 10^{-8}$ g

8. Klinische Daten und Korrelationen der untersuchten Patienten

Heute wird nur noch bei wenigen Tumorarten eine Monotherapie durchgeführt. Auch Adm wurde bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten nur in Kombination mit anderen, z. T. ebenfalls myelosuppressiven Zytostatika angewandt. Eine Differenzierung der unerwünschten Wirkungen ist dann nur möglich bei typischen toxischen Effekten, wie z. B. der Neuropathie nach Vincristin. Vergleiche scheinen dennoch erlaubt, da die in dieser Arbeit am häufigsten angewandte Kombination das Salmon-Jones-Schema war und bei zwei mehrmals untersuchten Patienten jeweils dieselbe Kombination eingesetzt worden war.
Der Nadir der Leukozyten erschien bei der Patientin Sch, G nach dem ersten Adm-Stoß am 10. Tag (2200 Zellen/ul). Die Erholung zeigte sich am 17. Tag mit 4500 Zellen/ul.
Nach dem zweiten Therapiezyklus trat die Leukopenie verzögert am 18. Tag auf (2400 Zellen/ul). Die Erholung war wegen weiterer Gaben von Vincristin und Cyclophosphamid nicht zu bestimmen.
Einen Monat nach der ersten Gabe von Adm hatte der Umfang des tumorbefallenen Oberschenkels deutlich abgenommen.

Bereits am 8. Tag waren die Leukozyten bei der Patientin Vo, M auf ihren tiefsten Wert von 1400 Zellen/ul abgefallen. Die Erholung zeichnete sich am 16. Tag mit 4700 Zellen/ul ab.
Nach Beginn der zytostatischen Therapie entwickelten sich eine Tachykardie von 120 - 140 Schlägen/min und Endstrekkenveränderungen im EKG, die als Frühkardiotoxizitätszeichen gedeutet wurden. Adm wurde deshalb beim zweiten Zytostatikastoß weggelassen. Ein Versuch mit einem Betarezeptorenblocker brachte keine Besserung, aber nach Digitalisierung kam es dann zu einem Rückgang der Tachykardie.

Am 13. Tag erreichten die Leukozyten bei dem Patienten En, K mit 2800 Zellen/ul ihren tiefsten Stand. In der Zeit bis zum 16. Tag waren die Leukozyten wieder auf 4800 Zellen/ul angestiegen.
Bei der Patientin Wi, G entwickelte sich eine ausgeprägte Leukopenie von 800 Zellen/ul am 17. Tag. Die Erholung ging sehr verzögert vonstatten, wahrscheinlich auch infolge der nicht allzulang zurückliegenden Strahlentherapie. Fünf Wochen nach der Adm-Injektion betrug die Leukozytenzahl 2400 Zellen/ul, zehn Wochen danach erst 3200 Zellen/ul.

D Diskussion

1. Plasmaspiegel

Benjamin et al (13) gaben 1973 ein Nachweisverfahren an, in dem sie zwischen der Gesamtfluoreszenz, Adm und den durch Hydrolyse gewonnen Produkten differenzierten. Sie beschrieben eine biphasische Blutspiegelkurve von Adm nach einer Kinetik 1. Ordnung. Die HWZ_v von Adm wird mit 1,1, die HWZ_{el} mit 17 h angegeben. Die Blutabnahmezeiten sind nicht verzeichnet. Bei zwei Patienten wurden wie in dieser Arbeit schon nach fünf, zehn Minuten usw. Plasmaspiegel gemessen, jedoch keine frühe HWZ berechnet. Aus den angegebenen Werten läßt sich entnehmen, daß etwa 5 min nach der ersten Messung die Konzentration bereits auf die Hälfte abgefallen war.
Benjamin (11) beschreibt 1975 in Berichtigung früherer Ergebnisse einen triphasischen Kurvenverlauf, die erste Phase mit einer HWZ von 0,5, die zweite von 8 und die dritte von 28 h. Die unterschiedlichen HWZ_v zwischen dieser und anderen Arbeiten erklären sich wahrscheinlich aus differierenden Abnahmezeiten. Der Kurvenverlauf ist im Anfang durch die rasche Verteilung von Adm sehr steil und geht nach etwa einer halben Stunde in eine weniger steile Phase über. Die anderen Autoren kämen vermutlich zu ähnlichen HWZ_v bei entsprechend frühen Abnahmezeiten.
Der Mittelwert für die HWZ_{el} von Adm ist 22 bzw. 11 h länger als der von Benjamin et al (13) bzw. der von Benjamin (11) angegebene, korreliert aber recht gut mit den Ergebnissen von Bachur et al (9).
Sowohl bei der HWZ_v als auch bei der HWZ_{el} ist eine Zunahme von Adm-ol (0,2 bzw. 41 h) gegenüber Adm (0,15 bzw. 38,7 h) zu verzeichnen. Die HWZ von Adm-on (0,31 bzw. 55,8 h) übersteigen noch die Werte dieser beiden Substan-

zen.
Die Konzentration von Adm nimmt ab
a) durch Aufnahme in die Gewebe
b) durch Metabolisierung und
c) durch Exkretion.

Bei a) ist zu bedenken, daß Adm in der Hauptsache intrazellulär verändert wird, die Konzentration von Adm also ab-, die der Metabolite zunimmt. Adm-ol und Adm-on sind offenbar recht stabile Produkte, da man sie länger als 72 h im Plasma nachweisen kann.
Die längsten HWZ_{el} wurden bei den Patienten Vo, M und Fe, A 2 gefunden. Bei der Patientin Vo, M war die Dosis wegen Lebermetastasen bereits auf die Hälfte reduziert worden (12). Bei niedrigen Anfangskonzentrationen (Abb. 25) verläuft die Kurve bis auf die Überkreuzung von Adm und Adm-ol bis zum 12 h-Wert fast normal. Bei dieser Patientin ist die hepatische Exkretionsstörung mit einem Serumbilirubin von 3 mg% am Tag nach der Adm-Injektion sicher. Da Adm zum weitaus größten Teil über die Galle eliminiert wird (14,55), nimmt es nicht wunder, daß die HWZ_{el} etwa dreimal so lang wie der Durchschnittswert der untersuchten Patienten ist. Der Frühtyp der Kardiotoxizität wird zwar als dosisunabhängig beschrieben (43), doch ist bei der Patientin Vo, M zu diskutieren, ob er nicht infolge einer verstärkten Kumulation im Myokard wegen erhöhter und verlängerter Plasmaspiegel auftrat.

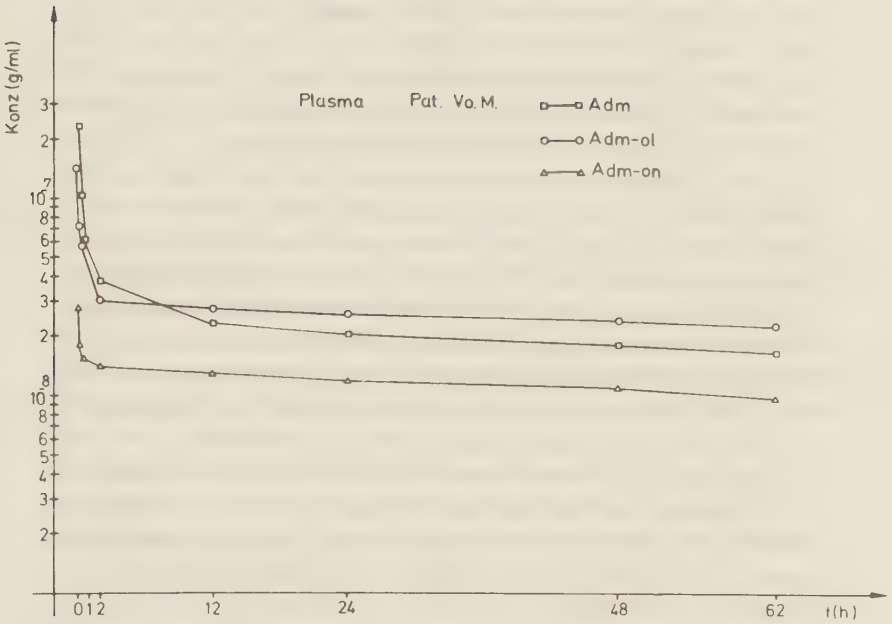

Abb. 25: Plasmaspiegel der Patientin Vo, M

Die frühe Leukopenie (am 8. Tag mit 1400 Zellen/ul) ist jedenfalls ziemlich sicher auf diese Kumulation zurückzuführen.
Nach dem zweiten Adm-Stoß kam es bei dem Patienten Fe, A trotz gleicher Dosis zu einer ausgeprägten Kumulation, die schon nach zwei Stunden einsetzte, so daß sich keine typische triphasische Kurve zeigte. Es fand sich bei ihm kein Hinweis auf eine hepatische Exkretionsstörung, das

Serumbilirubin lag mit 0,4 mg% im Normbereich. Für Lebermetastasen bestand bis zu zehn Monate nach dem Beobachtungszeitpunkt kein Anhalt.
Die Flächen unter den Kurven sind bei Fe, A 2 aufgrund der höheren Konzentrationen trotz der um ein Drittel kürzeren HWZ_{el} größer als bei der Patientin Vo, M.
Bei der Aufnahme zum dritten Adm-Stoß war die Erholung mit 3200 Zellen/ul noch nicht vollständig. Nach Reduktion der Dosis auf 50 % wiesen die Plasmaspiegel wieder den bekannten triphasischen Verlauf auf mit einer kurzen Adm-HWZ_{el} von 28 h. Eine Leukozytendepression trat danach nicht auf. Es wäre anzustreben und erscheint möglich, die Dosis unter Berücksichtigung der vorangegangenen Plasmaspiegel und Leukozytenkonzentrationen individuell angepaßt zu variieren.

Bei der nach dem Rosen-Schema (57) behandelten Patientin Sch, G beobachtet man bei beiden Adm-Stößen vom ersten bis dritten Tag ähnliche Verläufe: die HWZ_{el} von Adm und Adm-ol nehmen zu, die von Adm-on hingegen ab. Die Flächen unter den Kurven verhalten sich nahezu entsprechend.
Für die stetige Verkürzung der HWZ_{el} von Adm-on scheinen verschiedene Erklärungen möglich, die im folgenden erläutert werden.
Falls die enzymatische Produktion von Adm-on (vgl. Gewebekonzentrationen) ein wesentlicher Plasmaclearanceprozeß ist, käme es bei einer Substrathemmung der Enzyme zu einer Konzentrationsabhame von Adm-on. Dafür spräche die gleichzeitige Zunahme der HWZ_{el} von Adm und Adm-ol. Es könnte auch sein, daß das lipophilere Adm-on die Zellmembran leichter passiert als die polaren Moleküle Adm und Adm-ol.
Denkbar ist auch ein Zusammenwirken beider Möglichkeiten.
Bezüglich der Myelotoxizität sind hauptsächlich die zunehmend längeren HWZ_{el} von Adm und Adm-ol (6, 26, 55) von Bedeutung.

Es ist daher zu überlegen, ob man besonders bei höheren Dosierungen die Dosis am zweiten und dritten Tag sequentiell reduziert oder die Gesamtdosis auf einmal gibt. Vorher wäre es jedoch notwendig, diese Befunde mittels der Daten mehrerer nach dem Rosen-Schema behandelten Patienten zu bestätigen.

2. Konzentration in den Leukozyten

Einen initialen Anstieg erreicht Adm in sieben, Adm-ol in fünf von zehn Kurven (vgl. Abb. 13 - 18), Adm-on erreicht dies nur einmal schon nach fünf Minuten. Adm-ol hat in zwei, Adm-on in fünf von zehn Kurven seinen initialen Anstieg nach dem des Adm. Dies dürfte seine Ursache darin haben, daß das in die Zelle aufgenommene Adm intrazellulär, wie erwähnt, zu Adm-ol und Adm-on metabolisiert wird.
Die Verweildauer der Granulozyten im Blut beträgt etwa sieben bis neun Stunden. Das Verhältnis der Granulozyten im Knochenmark zu denen im Blut wird mit zwanzig bis dreißig zu eins angegeben. Reifung und Bewegung der Granulozyten sollen nur in einer Richtung erfolgen und der tägliche Granulozytenumsatz soll $1{,}7 \cdot 10^9$ Zellen/kg Körpergewicht betragen (21). Diese Merkmale der Granulozytenkinetik könnten erklären, daß Adm und Adm-ol, seltener Adm-on, nach 24 bis 48 h durch Einschwemmung von mit Adm angereicherten Granulozyten aus dem Knochenmark ein zweites Maximum haben, das bei Adm in drei von zehn Kurven etwa so groß wie das erste, in vier Kurven aber größer ist. Eine Abhängigkeit der Adm-Konzentration in den Leukozyten von der Dosis ließ sich nicht nachweisen. Ob sie abhängig ist von der Zellzahl im peripheren Blut scheint fraglich, da das Gewicht des "Blutgewebes" im Verhältnis zum übrigen Körpergewebe gering ist.

Jedoch zeigt sich beim Vergleich der Werte der beiden mehrmals untersuchten Patienten Sch, G und Fe, A eine Korrelation zwischen den Konzentrationen von Adm in den Leukozyten und den Plasmahalbwertszeiten.
Entsprechend den längeren HWZ_{el} von Adm bei Sch, G I findet man nach 24 h höhere Konzentrationen in den Leukozyten als bei II. Dasselbe gilt für Adm-ol bei I,2 und für Adm-on bei II,2 und 3, wo die HWZ_{el} länger als bei I,2 und 3 sind. Die Konzentration von Adm-ol bei I,3 und II,3 ist nahezu gleich groß bei ungefähr gleich langen HWZ_{el}.
Bei dem Patienten Fe, A läßt sich diese Korrelation ebenfalls gut demonstrieren. Insbesondere nach 24 h liegen die Konzentrationen von Adm und Adm-ol, diejenigen von Adm-on erst nach 48 h, nach der zweiten Adm-Gabe entsprechend den stark verlängerten HWZ_{el} von 90 bzw. 106 bzw. 99 h gegenüber der ersten und dritten Adm-Gabe, die normale HWZ_{el} aufweisen, signifikant höher.
Die klinischen Befunde passen gut zu diesen Ergebnissen. Der Nadir der Leukozyten trat bei der Patientin Sch, G nach dem ersten Stoß acht Tage früher als nach dem zweiten auf und lag tiefer.
Die Leukozyten des Patienten Fe, A wurden zwar nicht kontrolliert, doch war die Erholung drei Wochen nach dem zweiten Stoß im Unterschied zum ersten und dritten mit einer Leukopenie von 3200 Zellen/ul noch nicht vollständig.

3. Gallensaftanalyse

Bei den beiden Patientinnen, bei denen diese Untersuchungen durchgeführt wurden, lagen das Serumbilirubin und die cholostaseanzeigenden Enzyme im Normbereich. Trotzdem ist die Eliminationsaktivität sehr verschieden, ebenso die Enzymaktivität, die der Produktion von Metaboliten dient.

Die Patientin Ge, E eliminiert in einer um 30 min kürzeren Zeit dreißigmal so viel wie die Patientin Wi, G. Im Gallensaft erscheinen bei der Patientin Ge, E doppelt so viele Metabolite. Bei der Patientin Wi, G ist wegen der geringeren Elimination über die Galle die HWZ_{el} von Adm 15, die von Adm-ol 12 h länger und die Flächenwerte sind 3 bzw. 2,5 mal so groß wie bei der Patientin Ge, E. Die HWZ_{el} von Adm-on ist zwar kleiner, die Fläche unter der Kurve als Ausdruck der verminderten Elimination aber 1,4 mal so hoch wie bei der Patientin Ge, E.

Die Folge der verzögerten Elimination bei der Patientin Wi, G ist eine verstärkte Myelotoxizität mit einem kontinuierlichen Abfall der Leukozyten bis zum 17. Tag auf 800 Zellen/ul. Die Knochenmarksschädigung kommt auch darin zum Ausdruck, daß die Erholung am 32. Tag mit 2400 Zellen/ul noch nicht abgeschlossen war. Diese ausgeprägte Verzögerung ist jedoch auch durch eine Knochenmarksinsuffizienz nach vorangegangener Strahlentherapie mitbedingt.

Benjamin (10, 11) gibt an, daß nur bei Patienten mit erhöhtem Bilirubin im Serum uniform verlängerte und erhöhte Spiegel gefunden wurden (vgl. die Ergebnisse von der Patientin Vo, M). Bei Patienten mit anderen Abnormitäten der Leberfunktion waren die Ergebnisse sehr unterschiedlich und nicht vorhersehbar. Der Bromsulphthalein-Retentionswert ist kein verläßlicher Parameter (10). Die Metabolisierung und Ausscheidung über die Galle ist vom Zustand der Leberfunktion abhängig und individuell sehr verschieden. Ein Beispiel dafür sind die verlängerten HWZ_{el} des Patienten Fe, A nach dem zweiten Adm-Stoß trotz einer normalen Serumbilirubinkonzentration.

Es ist zu empfehlen, bei Serumbilirubinerhöhungen gemäß den Vorschlägen Benjamins die Dosis zu reduzieren (12).

Mit der Polychemotherapie erreicht man bei vielen Neoplasmen höhere Ansprechraten. Es ist zu erwarten, daß bei neuen Kombinationen weitere Interferenzen mit zuweilen verstärkter Toxizität entdeckt werden. Daher erscheint es sinnvoll, in onkologischen Zentren standardisierte Plasmaspiegel zu bestimmen, um notwendige Plasmakonzentrationen nicht zu überschreiten bzw. um die Dosis korrigieren zu können.
Zur Kontrolle von Plasmaspiegeln genügen wenige Werte, etwa nach 10 min, 1, 12, 24 und 48 h. Da bei dieser Methode nur 4 ml Blut benötigt werden, hält sich der Blutverlust mit 20 bis 24 ml in Grenzen. Bei verlängerten HWZ_{el} und vergrößerten Flächen unter den Kurven ist eine ausgeprägtere Myelosuppression sehr wahrscheinlich und eine Leukozytenkontrolle in kürzeren Abständen angeraten, um bei einer Gefährdung den Patienten einer adäquaten "supportive care" (16) zuführen zu können.
Benjamin et al (14) und Riggs et al (55) berichten von je einem Patienten mit T-Drain, bei denen sie die Galleexkretion von Adm untersuchten. Sie differenzierten 10 bzw. 11 Metabolite. Adm-ol war auch bei ihnen der Hauptmetabolit. Binnen einer Woche waren 40 bzw. 41 % der verabreichten Dosis ausgeschieden, 42,5 bzw. 40 % als Adm, 22,5 bzw. 22 % als Adm-ol. Die Vorteile dieser seltenen Möglichkeit gegenüber der in dieser angewandten Methode sind, daß die Ausbeute größer und der Beobachtungszeitraum länger ist.
Die Unterschiede in der Zahl der Metabolite (8 bzw. 4 gegenüber 10 bzw. 11) erklären sich wahrscheinlich durch die individuell verschiedene Leberfunktion und durch den unterschiedlich langen Beobachtungszeitraum.
Gerade bei Extraktion aus Gallensaft mit seiner größeren Zahl an Metaboliten bietet die Methode der Zweiphasenextraktion Vorteile gegenüber der von Riggs et al (55)

angewandten, da zwischen denweniger polaren Substanzen im ersten Extrakt und den polaren im zweiten leichter unterschieden werden kann und die Trennung dann klarer ist. Ob alle Substanzen des ersten Extraktes Aglykonen entsprechen, müßte eine massenspektrographische Untersuchung zeigen.
Es könnte sein, daß die bei Riggs et al wohl teilweise sehr nahe beieinanderliegenden Banden nicht alle auch verschiedenen Metaboliten entsprechen.
Wenngleich man berücksichtigen muß, daß die Dosis bei ihnen fast doppelt so hoch war, fallen die nach 90 min über dreimal, nach 180 min über zweimal so hohen Werte der Adm-Galle-Plasma Konzentrationsverhältnisse gegenüber Adm-ol auf. Nach 90 h hat sich dieser Unterschied auf weniger als das zweifache verringert. Sie führten dieses Phänomen darauf zurück, daß Adm von Hepatozyten wegen seiner geringeren Polarität oder sterischer Eigenheiten bevorzugt konzentriert würde.
Im Prinzip können die höheren Galle-Plasma-Konzentrationsverhältnisse von Adm bei beiden Patienten bestätigt werden. Die Unterschiede sind jedoch nicht so ausgeprägt.
Vergleicht man die Verhältnisse von Adm-ol zu Adm in Plasma und Galle (Tab. 7 und 8), so lassen sich bei der Patientin Wi, C im Plasma bis 150 min höhere Werte nachweisen, nach 180 min sind die Werte gleich. Bei der Patientin Ge, E findet man diese Angleichung bereits nach 90 min.
Diese Befunde zeigen außer den beschriebenen quantitativen auch die zeitlich individuellen Schwankungen der Metabolisierung und der Exkretion über die Galle.
Riggs et al vermuten, daß Adm-ol für die Adm-Toxizität verantwortlich ist, da es in vitro eine höhere spezifische Hemmung der DNA- und RNA-Sythese verursacht als Adm. In Anbetracht der bevorzugten Ausscheidung von Adm gegenüber Adm-ol in die Galle sind die Erhöhung der Plasmaspiegel von Adm-ol und als deren Folge die verstärkte Toxizität bei Patienten

mit eingeschränkter Leberfunktion verstehbar (16).
Dieses Phänomen war an der Patientin Vo, M zu beobachten, bei der die HWZ_{el} von Adm-ol mit 148 h 16 h länger war als die von Adm. Darüberhinaus überstieg die Konzentration von Adm-ol etwa von der zehnten Stunde an diejenige von Adm (vgl. Abb. 25).
Ebenso übertraf die HWZ_{el} von Adm-ol bei Fe, A 2 mit 106 h die von Adm um 16 h. Zwar ist der Mittelwert der HWZ_{el} von Adm-ol ohnehin länger, aber nur um 2,3 h. Deshalb kann man annehmen, daß die fast siebenfach größere Differenz bei den Patienten Vo, M und Fe, A 2 auf das Prinzip der bevorzugten hepatozellulären Konzentrierung von Adm-ol zurückzuführen ist, das oben bereits beschrieben wurde.
Wie an den Patientinnen Ge, E und Wi, G gezeigt wurde, können die Differenzen in Metabolisierung und Exkretion und deren Folgen auf die Plasma- und Gewebekonzentration und die Toxizität recht erhebliche Ausmaße annehmen. Bei der Planung der Therapie mit Adm sollten deshalb stärker als bisher die individuellen Unterschiede in Betracht gezogen werden.

4. Gewebekonzentrationen

Herman et al (39) berichten 1972, daß Adm in isolierten, blutdurchströmten Hundeherzen signifikante Erhöhungen des koronoren Perfusionsdruckes induzierte. Dieser Effekt schien an das Auftreten von Aglykonen gebunden zu sein. EDTA konnte die Zunahme des Perfusionsdruckes und das Erscheinen von Aglykonen vermindern. Im Zusammenhang damit sind die Befunde von Olson et al (52) zu beachten, welche die erwähnten histologisch-pathologischen Veränderungen vor allem in der Umgebung von Aufzweigungen der Koronararterien beobachteten. Wheeler (65) schlug ausgehend von weiteren Befunden dieser Art (48, 67) vor, ein Adm-Molekül ohne die Hydroxygruppe an C_6 zu synthetisieren, welches geringere Neigung haben sollte, zum Aglykon zu zerbrechen, in der Hoffnung auf verminderte Kardiotoxizität

bei gleicher Wirksamkeit. Diesbezüglich ist der Befund von Interesse, daß eine Woche nach der Adm-Applikation bei der Patientin Boe, I Adm-on der mit Abstand am stärksten angereicherte Metabolit im Gewebe war und die Konzentration im Myokard die der anderen Gewebe übertraf (vgl. Tab. 10). Offensichtlich erscheinen als fluoreszierende Hauptprodukte des Adm-Stoffwechsels intrazellulär Aglykone.
Obschon es als nicht sehr wahrscheinlich anzusehen ist, daß die Kardiotoxizität allein durch die Erhöhung des Perfusionsdruckes der Koronararterien, die auf der Entstehung von Aglykonen beruhen soll, erklärbar ist, lassen die geschilderten Ergebnisse anderer Autoren (39, 48, 52, 67) und die dieser Arbeit vermuten, daß bei der Kardiotoxizität von Adm Gefäßprozesse am Herzen, die durch Aglykone ausgelöst wurden, eine wesentliche Rolle spielen. Der Vorschlag von Wheeler (65) ist deshalb beachtenswert.
Es erscheint sinnvoll, in Versuchen an Kaninchen über längere Zeit den Verlauf der Konzentrationen von Adm und seiner Metabolite im Gewebe, besonders denjenigen der Aglykone, in Relation zu den kardiotoxischen Effekten zu untersuchen.

E Zusammenfassung

Bei acht Patienten wurden Plasmaspiegel von Adm, Adm-ol und Adm-on gemessen, bei zweien davon mehrmals. Die Eliminationshalbwertszeit von Adm nahm bei einer nach dem Rosen-Schema behandelten Patientin bei beiden Adm-Stößen von der ersten bis dritten Gabe zu, die von Adm-on ab, die Eliminationshalbwertszeit von Adm-ol war jeweils nach der dritten Gabe länger als nach der ersten. Da Adm und Adm-ol hauptsächlich für die Adm-Toxizität verantwortlich sind, ist zu überlegen, ob man bei diesem Schema nicht die Dosis von der ersten bis zur dritten Gabe sequentiell reduzieren oder auf einmal geben sollte.

Nach dem zweiten Adm-Stoß kam es bei einem dreimal nacheinander untersuchten Patienten trotz normalen Serumbilirubins zu signifikant verlängerten Eliminationshalbwertszeiten aller drei Substanzen. Nach drei Wochen bestand danach noch eine Leukopenie von 3200 Zellen/ul, die eine nachfolgende Dosisreduktion auf 50 % notwendig machte. Die Spiegel danach wiesen wieder den typischen triphasischen Verlauf auf.

Eine Patientin mit Lebermetastasen und erhöhtem Serumbilirubin entwickelte trotz reduzierter Dosis eine ausgeprägte Kumulation von Adm und als Folge davon eine frühe Leukopenie von 1400 Zellen/ul am 8. Tag. Endstrekkenveränderungen im EKG und eine Tachykardie, die danach auftraten, wurden als kardiotoxischer Frühtyp gedeutet. Bei den Konzentrationen in den Leukozyten ließ sich keine Korrelation zur Dosis nachweisen, aber bei beiden mehrfach untersuchten Patienten zeigte sich eine Abhängigkeit von den Eliminationshalbwertszeiten.

Die Exkretion über die Galle wurde bei zwei Patienten mittels einer Gastro-Duodenalsonde 150 bzw. 180 min lang untersucht. Das Serumbilirubin und die Cholostaseenzyme lagen bei beiden innerhalb des Normbereiches. Eine Patientin eliminierte in einer 30 min kürzeren Zeit dreißigmal so viel Adm und produzierte doppelt so viele Metabolite wie die andere, bei der infolge der wesentlich geringeren Elimination die Toxizität erhöht war (Leukopenie von 800 Zellen/ul am 17. Tag, Erholung verzögert). Diese möglichen erheblichen individuellen Unterschiede sollten künftig bei der Dosierung in größerem Maße berücksichtigt werden als bisher.
In Gewebeproben aus Herz, Leber, Niere und Pankreas einer sechs Tage nach Adm-Therapie verstorbenen Patientin wurden hohe Konzentrationen an Adm-on gefunden, welche die von Adm und Adm-ol weit übertrafen. Die Hauptprodukte des Adm-Metabolismus scheinen somit Aglykone zu sein. Die interessanten möglichen Zusammenhänge im Hinblick auf die Kardiotoxizität des Adm wurden erörtert.

F Literaturverzeichnis

1) Arcamone, F., Cassinelli, G., Fantini, G., Grein, A., Orezzi, P., Pol, C., and Spalla, C.
Adriamycin,14-Hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from Streptomyces peuctius var. caesius.
Biotechnol Bioengin 11 1101 - 1110 (1969).

2) Arcamone, F., Cassinelli, G., Franceschi, G., Penco, S., Pol, C., Redaelli, S., and Selva, A.
Structure and Physicochemical Properties of Adriamycin (Doxorubicin).
International Symposion on Adriamycin, Carter, S.K., Di Marco, A., and Ghione, M., editors, 35 - 46, Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972

3) Arcamone, F., Franceschi, G., Penco, S., and Selva, A.
Adriamycin (14-Hydroxydaunomycin), a novel antitumor antibiotic.
Tetrahedron Lett 13 1007 - 1010 (1969).

4) Arena, E., D'Alessandro, N., Dusonchet, L., Gebbia, N., Gerbasi, F., Palazzoadriano, M., Raineri, A., Rausa, L., and Tubaro, E.
Analysis of the pharmacokinetic characteristics, pharmacological and chemotherapeutic activity of 14-Hydroxydaunomycin (Adriamycin), a new drug endowed with an antitumor activity.
Arzneim Forsch 21, n. 8, 1258 - 1263(1971)

5) Asbell, M.A., Schwartzbach, E., Bullock, F.J., and Yes air, D.W.
Daunomycin and adriamycin metabolism via reductive glycosidic cleavage.
J Pharmacol Exp Ther 182 63 - 69 (1972)

6) Bachur, N.R.
Adriamycin Pharmacology
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6 (2), 153 - 158 (1975)

7) Bachur, N.R., and Gee, M.
Oxygen sensitive reductive cleavage of daunorubicin and adriamycin.
Fed Proc 31 835 (1972)

8) Bachur, N.R., Hildebrand, R.C., and Jaenke, R.S.
Adriamycin and daunorubicin disposition in the rabbit.
J Pharmacol Exp Ther 191 331 - 340 (1974)

9) Bachur, N.R., Riggs, C.E.,Jr, Green, M.R., Langone, J.J., Van Vunakis, H. and Levine, L.
Plasma adriamycin and daunorubicin levels by fluorescence and radioimmunoassay.
Clin Pharmacol Ther 21 70 - 77 (1976)

10) Benjamin, R.S.
A Practical Approach to Adriamycin Toxicology.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 191 - 194 (1975)

11) Benjamin, R.S.
Clincal Pharmacology of Adriamycin.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 183 - 185 (1975)

12) Benjamin, R.S.
Pharmacokinetics of Adriamycin in Patients with Sarcomas.
Cancer Chemother Rep 58 271 - 273 (1974)

13) Benjamin, R.S., Riggs, C.E.,Jr. and Bachur, N.R.
Pharmacokinetics and metabolism of adriamycin in man.
Clin Pharm Ther 14 592 - 600 (1973)

14) Benjamin, R.S., Riggs, C.E.,Jr, Serpick, A.A., and Bachur, N.R.
Biliary excretion of adriamycin in man.
Clin Res 22 483 A (1974)

15) Benjamin, R.S., Riggs, C.E.,Jr, Serp ick, A.A., and Bachur, N.R.
Human metabolism of adriamycin
Proc Am Assoc Cancer Res and ASCO 15 76 (1974)

16) Benjamin, R.S., Wiernik, R.H., and Bachur, N.R.
Adriamycin chemotherapy - efficacy, safety, and pharmacologic basis of an intermittent single high-dosage schedule.
Cancer 33 19 - 27 (1974)

17) Blum, R.H., and Carter, S.K.
Adriamycin, a new anticancer drug with significant clinical activity.
Ann Intern Med 80 249 - 259 (1974)

18) Bøyum, A.
General Procedure for Isolation of whole Leukocytes (Granulocytes and Lymphocytes)
Scand J Clin Lab Invest 21 Suppl 97 (1968)

19) Bristow, M., Mason, J., Billingham, M., and Daniels, J.
Clinical evaluation of adriamycin cardiomyopathy.
Proc 13th Ann Meet ASCO, Vol 18 (1977)

20) Carter, S.K.
Adriamycin - A Review
J Nat Cancer Inst 55 1265 - 1274 (1975)

21) Cartwright, G.E., Athens, J.W., and Wintrobe, M.M.
The kinetics of granulopoiesis in normal man.
Blood 24 780 - 803 (1964)

22) Chang, P., and Wiernik, P.H.
Combination chemotherapy with adriamycin and streptozocin. I. Clinical results in patients with advanced sarcoma.
Clin Pharmacol Ther 20 605 - 610

23) Chang, P., Riggs, C.E.,Jr, Scheerer, M.T., Wiernik, P.H., and Bachur, N.R.
Combination chemotherapy with adriamycin and streptozocin. II. Clinicopharmacologic correlation of augmented toxicity caused by streptozocin.
Clin Pharmacol Ther 20 611 - 616 (1976)

24) Cortes, E.P., Lutman, G., Wanka, J., Wang, J.J., Pickren, J., Wallace, J., and Holland, J.F.
Adriamycin cardiotoxicity: a clinicopathologic correlation.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 215 - 225 (1975)

25) Cortes, E.P., Takita, H., and Holland, J.F.
Adriamycin in advanced bronchogenic carcinoma.
Cancer 34 518 - 525 (1974)

26) Di Fronzo, G., Lenaz, L., and Bonadonna, G.
Distribution And Excretion Of Adriamycin In Man.
B iomedicine 19 169 - 171 (1973)

27) Di Marco, A.
Adriamycin: Mode and Mechanism of Action.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 91 - 106 (1975)

28) Di Marco, A.
Interactions of oncostatic agents with molecular mechanisms involved in transformation and proliferation.
European Association for Cancer Research, 2nd meeting, Heidelberg, Oct 2-5 (1973)

29) Di Marco, A., and Arcamone, F.
DNA Complexing Antibiotics: Daunomycin, Adriamycin and their Derivatives.
Arzneim Forsch 25 Nr. 3, 368 - 375 (1975)

30) Ehninger, G.
Eine Methode zur Bestimmung von Adriamycin und seinen Metaboliten in Plasma, Leukozyten und Geweben.
Inaugural-Dissertation, Tübingen 1978

31) Fajardo, L.F., Eltringham, J.R., and Stewart, J.R.
Combined Cardiotoxicity of Adriamycin and X-Radiation.
Lab Invest 34 86 - 96 (1976)

32) Frei, E., Luce, J.K., and Middleman, E.
Clinical trials of adriamycin.
International Symposion on Adriamycin, Carter, S.K., Di Marco, A., and Ghione, M., editors, 153 - 160
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972

33) Friedman, M.A., Bozdech, M., Billingham, M., and Rider, A.
Serial endomyocardial biopsies correlated with cardiac function in adriamycin treated humans.
Proc 68th Ann Meet AACR, Vol 18 (1977)

34) Gilladoga, A.C., Manuel, C., Tan, C.T.C., Wollner, N., Sternberg, S.S., and Murphy, M.L.
The cardiotoxicity of adriamycin and daunomycin in children.
Cancer 37 1070 - 1078 (1976)

35) Gladtke, E. und von Hattingberg, H.M.
Pharmakokinetik
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1973

36) Gottlieb, J.A., Baker, L.H., Quagliana, J.M., Luce, J.K., Whitecar, J.P., Sinkovics, J.G., Rivkin, S.E., Brownee, R., and Frei, E.
Chemotherapy of sarcomas with a combination of adriamycin and dimethyl triazeno imidazole carboxamide.
Cancer 30 1632 - 1638 (1972)

37) Gottlieb, J.A., Bodey, G.P., Sinkovics, J.G., Rodriquez, V., and Burgess, M.A.
An effective new 4-drug combination regimen (CY-VA-DIC) for metastatic sarcomas.
Proc Am Soc Clin Onc 15 162 (1974)

38) Gottlieb, J.A., and Hill, C.S.
Chemotherapy of thyroid cancer with adriamycin.
N Engl J Med 290 193 - 197 (1974)

39) Herman, E.H., Mhatre, R.M., Lee, I.P., and Waravdekar, V.S.
Prevention of the Cardiotoxic Effects of Adriamycin and Daunomycin in the Isolated Dog Heart.
Proc Soc Exp Biol Med 140 234 - 239 (1972)

40) Jones, S.E., Ewy, G.A., and Groves B.M.
Echocardiographic detection of adriamycin heart disease.
Proc Am Soc Clin Onc, Abstract No 1029 (1975)

41) Kessel, D., Botterill, V., and Wodinsky, I.
Uptake and retention of daunomycin by mouse leukemic cells as factors in drug response.
Cancer Res 28 938 - 941 (1968)

42) Kimura, K., Fujita, H., and Sakai, Y.
Blood Levels, Tissue Distribution and Clinical Effects of Adriamycin.
International Symposion on Adriamycin, Carter, S.K., Di Marco, A.,and Ghione, M., editors, 124 - 134
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972

43) Lefrak, E.A., Pitha, J., Rosenheim, S., and Gottlieb, J.A.
A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity.
Cancer 32 302 (1973)

44) Lefrak, E.A., Pitha, J., Rosenheim, S., O'Bryan, R.M., Burgess, M.A., and Gottlieb, J.A.
Adriamycin Cardiomyopathy.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 203 - 208 (1975)

45) Massimo, L., Dagna-Bricarelli, F., and Cherchi, M.G.
Effects of Adriamycin on Blastogenesis and Chromosomes of Blood Lymphocytes: "in vitro" and "in vivo" Studies.
International Symposion on Adriamycin, Carter, S.K., Di Marco, A., and Ghione, M., editors, 35 - 46
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972

46) Mc Credie, K.B., Bodey, G.A., Gutterman, J.U., Rodriguez, V., and Freireich, E.J.
Sequential Adriamycin-Ara-C (A-OAP) for remission induction of adult acute leukemia.
Proc Am Assoc Cancer Res 15 62 (1974)

47) Meriwether, W.D., and Bachur, N.R.
Inhibition of DNA and RNA metabolism by daunomycin and adriamycin in L 1210 mouse leukemia.
Cancer Res 32 1137 - 1142 (1972)

48) Mhatre, R.H., Herman, E., Huidobro, A., and Waravdekar, V.J.
Possible relation between metabolism and cardiac toxicity of daunomycin and related compounds.
J Pharmacol Exp Ther 178 216 - 222 (1971)

49) Minow, R.A., Benjamin, R.S. and Gottlieb, J.A.
Adriamycin Cardiomyopathy - An Overview with Determination of Risk Factors.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 195 - 201 (1975)

50) Minow, R.A., Gottlieb, J.A., and Freireich, E.J.
Electrocardiogram QRS voltage changes in adriamycin cardiomyopathy.
Proc Am Assoc Cancer Res and ASCO 16 87 (1975)

51) O'Bryan, R.M., Luce, J.K., Talley, R.W., Gottlieb, J.A., Baker, L.H., and Bonadonna, G.
Phase II evaluation of adriamycin in human neoplasia.
Cancer 32 1 - 8 (1973)

52) Olson, H.M., Young, D.M., Prieur, D.J., Le Roy, A.F., and Reagan, R.L.
Electrolyte and Morphologic Alterations of Myocardium in Adriamycin-Treated Rabbits.
Am J Pathol 77 439 - 454 (1974)

53) Pigram, W.J., Fuller, W., and Hamilton, L.D.
Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA.
Nature (New Biol) 235 17 - 19 (1972)

54) Price, P.J., Suk, W.A., Skeen, P.C., Chirigos, M.A., and Huebner, R.J.
Transforming Potential of the Anticancer Drud Adriamycin.
Science 187 1200 - 1201 (1975)

55) Riggs, C.E.,Jr, Benjamin, R.S., Serpick, A.A., and Bachur, N.R.
Biliary disposition of adriamycin.
Clin Pharmacol Ther 22 234 - 241 (1977)

56) Rineheart, J.J., Lewis, R.P., and Balcerzak, S.P.
Adriamycin Cardiotoxicity in Man.
Ann Internal Med 81 475 - 478 (1974)

57) Rosen, G., Wollner, N., Tan, C., Wu, S.J., Hajdu, S.I., Cham, W., D'Angio, G.J., and Murphy, M.L.
Disease-free survival in children, with Ewing's sarcoma treated with radiation therapy and adjuvant four-drug sequential chemotherapy.
Cancer 33 384 - 393 (1974)

58) Salmon, S.,and Jones, S.
Chemotherapy of advanced breast cancer with combination of adriamycin and cyclophosphamide.
Proc Am Assoc Cancer Res 15 90 (1974)

59) Sutow, W.W., Sullivan, P., and Fernach, D.
Adjuvant chemotherapy in primary treatment of osteogenic sarcoma.
Proc Am Assoc Cancer Res 15 20 (1974)

60) Tan, C., Etcubanas, E., Wollner, N., Rosen G., Gilladoga, A., Showel, J., Murphy, M.L., and Krakoff, I.H.
Adriamycin, an antitumor antibiotic in the treatment of neoplastic disease.
Cancer 32 9 - 17 (1973)

61) Tan, C., Rosen, G., Ghavimi, F., Haghbin, M., Helson, L., Wollner, N., and Murphy, M.L.
Adriamycin in pediatric malignancies.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 259 - 266 (1975)

62) Vig, B.K.
Chromosome aberrations induced in human leukocytes by the antileukemic antibiotic adriamycin.
Cancer Res 31 32 - 38 (1971)

63) Wagner, J.G., and Northam, J.I.
Estimation of Volume of Distribution and Half-Life of a Compound After Rapid Intravenous Injection.
J Pharm Sci, Vol 56, No 4, 529 - 531 (1967)

64) Wang, J.J., Holland, J.F., and Sinks, L.F.
Phase II study of adriamycin in childhood solid tumors.
Cancer Chemother Rep Part 3, vol 6(2), 267 - 270 (1975)

65) Wheeler, D.M.S.
Another Hypothesis Concerning the Antitumor Activity and Cardiotoxicity of Daunorubicin and Adriamycin.
Cancer Chemother Rep 59 258 - 259 (1975)

66) Yesair, D.W., Asbell, M.A., Bruni, R. Bullock, F.J., and Schwartzbach, E.
Pharmacokinetics and Metabolism of Adriamycin and Daunomycin.
International Symposion on Adriamycin, Carter, S.K., Di Marco, A., and Ghione, M., editors, 117 - 123
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972

67) Yesair, D.W., Schwartzbach, E., Shuck, D. Denine, E.P., and Asbell, M.A.
Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species.
Cancer Res 32 1177 - 1183 (1972)

68) Young, R.C., Rosenoff, S., and Olsen, H.M.
Alteration in DNA-Synthesis in Cardiac Tissue and Light-microscopic and Ultastructural Cardiac Damage induced by Adriamycin In Vivo: Relationships to Fatal Toxicity.
Adriamycin Review, EORTC International Symposium, European Press, Ghent, Belgium, 149 - 159 (1975)

69) Zunino, F., Gambetta, R., Di Marco, A., Zaccara, A., and Luoni, G.
A Comparison of the Effects of Daunomycin and Adriamycin on Various DNA Polymerases.
Cancer Res 35 754 - 760 (1975)

70) Zunino, F., Gambetta, R.A. Di Marco, A., and Zaccara, A.
Interaction of daunomycin and its derivatives with DNA.
Biochem Biophys Acta 277 489 - 498 (1972)

Herrn Prof. Dr. K. Wilms danke ich für das Angebot dieser Arbeit, für fördernde Kritik und immer hilfsbereite Unterstützung.
Frl. B. Proksch, Frau M. Zehender, den Herren Prof. Dr. Bieck, Dr. Geißeler und Dr. Stein, den Stationsärzten und dem Pflegepersonal und allen anderen, die zur Durchführung dieser Arbeit beigetragen haben, danke ich für Rat und Hilfe.
Meiner Gattin danke ich für das Zeichnen der Abbildungen, meiner Schwester für das Schreiben der Arbeit.
"Last not least" bedanke ich mich bei den Patienten, an denen diese Untersuchungen durchgeführt wurden, für ihre Mitarbeit.

LEBENSLAUF

Am 19. Juli 1951 wurde ich, Hans-Joachim Stocker, als Sohn des Oskar Stocker und seiner Ehefrau Marie, geb. Ebert, in Bad Rappenau geboren. Nach vier Jahren Grundschule besuchte ich ab 1962 das Progymnasium in Bad Wimpfen und wechselte 1967 an das Wilhelmi-Gymnasium in Sinsheim (Elsenz) über, an dem ich am 5.6.1970 meine Schulausbildung mit dem Abitur abschloß.

Von 1970 bis 1972 leistete ich meinen Zivildienst am Kreiskrankenhaus Ludwigsburg.

Im Wintersemester 1972 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Hohenheim. Von 1973 an studierte ich in Heidelberg. Dort legte ich 1974 die ärztliche Vorprüfung und 1975 den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.

Danach setzte ich mein Studium in Tübingen fort. Daselbst bestand ich im August 1977 den zweiten und am 20. Oktober 1978 den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung.

Citydruck · Haugerglacisstraße · 8700 Würzburg